MIKROCHIMICA ACTA

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR

A. A. BENEDETTI-PICHLER-New York · G. BLIX-Uppsala
C. DUVAL-Paris · F. FEIGL-Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ-Praha
P. L. KIRK-Berkeley · H. LIEB-Graz · F. A. PANETH-Mainz
F. SCHNEIDER-New York · R. STREBINGER-Wien
C. L. WILSON-Belfast · M. K. ZACHERL-Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS

E. ABRAHAMCZIK-Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBER-Philadelphia
R. BELCHER-Birmingham · N. D. CHERONIS-New York
F. HECHT-Wien · W. KIRSTEN-Uppsala · A. LACOURT-Bruxelles
W. C. McCRONE-Chicago · A. L. THOMPSON-Montreal
PH. W. WEST-Baton Rouge · M. L. WILLARD-State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF

M. K. ZACHERL-Wien

1955

FÜNFTES UND SECHSTES HEFT (SCHLUSSHEFT)

MIT 37 TEXTABBILDUNGEN

ABGESCHLOSSEN AM 19. NOVEMBER 1955

WIEN

SPRINGER-VERLAG

1955

Mikrochim. Acta

Die Zeitschrift

„Mikrochimica Acta"

erscheint zwanglos in Heften, die zu Jahresbänden von etwa 800 Seiten vereinigt werden. Der Preis eines Heftes richtet sich nach seinem Umfang und den jeweiligen Herstellungskosten.

Zur Veröffentlichung gelangen Originalarbeiten aus dem Gebiet der allgemeinen und angewandten Mikrochemie in deutscher, englischer und französischer Sprache, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Die Reihenfolge der Veröffentlichung richtet sich im allgemeinen nach dem Datum des Eingangs der Manuskripte bei der Redaktion.

Für die Zeitschrift bestimmte Manuskripte aus USA. und Canada sind zu senden an:

Editors of „Microchimica Acta", Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y., USA. (Dr. A. A. Benedetti-Pichler and Dr. F. Schneider)

Sonstige Manuskripte in englischer Sprache sind zu senden an:

Dr. C. L. Wilson, Department of Chemistry, The Queen's University, Belfast

Manuskripte in französischer Sprache sind zu senden an:

Prof. Clément Duval, Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'E. N. S. C. P., 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Manuskripte in deutscher Sprache sind zu senden an:

Prof. Dr. M. K. Zacherl, Wien, I., Mölkerbastei 5

Geschäftliche Mitteilungen sind zu richten an:

Springer-Verlag, Wien, I., Mölkerbastei 5
Fernsprecher: U 26 5 60 Serie, Telegrammadresse: Springerbuch Wien

Grundsätzlich werden nur Arbeiten angenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

1955 — 5. u. 6. Heft

Inhaltsverzeichnis

Seite

Sirotenko, A. A. Micro-Gasometric Determination of Water in Hydrated Salts 917

Llacer, A. J. Rhodizonate as Reagent for Barium, Strontium, and Calcium 921

Wehber, P. Chelatometrie. II. Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) und das Kupfer(II)/Kupfer(I)-Redoxsystem 927

Inglis, A. S. The Microdetermination of Chlorine, Bromine, and Iodine in Organic Compounds 934

Hintermaier, A., und **R. Grützner.** Mitteilungen über die direkte Sauerstoffbestimmung 944

Löffler, W. und **E. Nausch.** Mikrogasanalyse für Serienuntersuchungen 950

Pietsch, R. Metallfällungen mit Aminophenylarsinsäuren 954

Wiesenberger, E. Ein Hochvakuum-Mikroexsikkator und ein Heizblock zur Trocknung hygroskopischer Substanzen 962

Feigl, F., and **Cl. Costa Neto.** Detection of Oxamide, Guanidine, and Guanidine Derivatives in Spot Test Analysis 969

Sen, B., and **Ph. W. West.** A New Spot Test for Silver 979

Paschke, E. Zur Kenntnis der Glukosebestimmung nach Hagedorn und Jensen 983

West, Ph. W., and **McG. A. Duff.** Extraction of Mercury(I) and (II) and Subsequent Spot Test Detection with Dithizone 987

Feigl, F., and **A. Caldas.** Catalytic Detection of Cyanide Through the Benzoin Condensation 992

Feigl, F., and **C. Stark.** Einige Verbesserungen von Nachweisen in der organischen Tüpfelanalyse 996

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

Columbia University, New York, N. Y.

Micro-Gasometric Determination of Water in Hydrated Salts.

By

Aleksey A. Sirotenko.

With 1 Figure.

(Received March 2, 1955.)

Notevarp[1], *Rosenbaum* and *Walton*[2] have used calcium hydride to determine the water content of organic liquids. *Perryman*[3] has used anhydrous dioxane as a water extractant and suspending medium in conjunction with calcium hydride for a microdetermination of water in several liquids and powders.

A gasometric method is described by *Elitsur*[4, 5, 6, 7, 8] in which powdered calcium hydride is used in conjunction with either anhydrous ethanol, pyridine, or dioxane as an intermediary liquid for the determination of water in hydrated salts and blood serum.

The method of *Elitsur* has been modified by the adaption of a manometer-buret assembly from the *Soltys'* apparatus for the determination of active hydrogen[9] and by the design of a special reaction vessel with a steam-heated jacket.

The method is based upon the extraction of water from hydrated salts by anhydrous pyridine and quantitative interaction of the water and calcium hydride.

$$CaH_2 + 2\ H_2O \rightarrow Ca(OH)_2 + 2\ H_2.$$

To prevent the formation of stable pyridine hydrate, $C_5H_5N \cdot 3\ H_2O$ (b. p. 93° C) the reaction mixture is heated. Calcium hydride is available in a state of high purity and only 1.1683 mg of it is stoichiometrically required for 1 mg of water, but for the actual analysis it is preferable to use five or six times as much.

The stoichiometric equivalent is one millimeter of hydrogen at S. T. P. per 0.80376 mg of water.

Apparatus.

The apparatus, Fig. 1, consists of a manometer-buret assembly with a rack and pinion device for the leveling bulb. The buret (*B*) is graduated in 0.02-ml intervals from 0 to 7 ml. The manometer (*A*) has graduations corresponding exactly in position to those on the buret. The apparatus is filled with dry mercury.

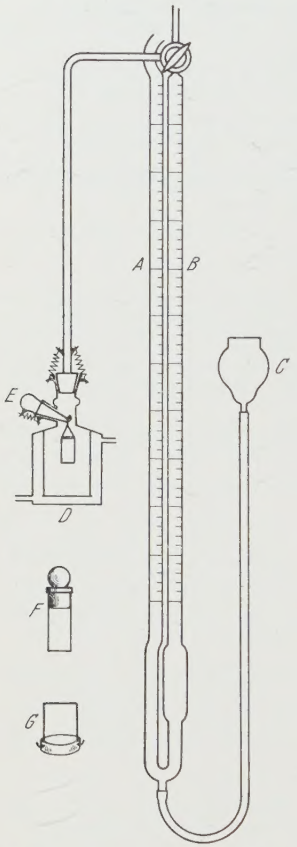


Fig. 1. Gasometric Determination of Water.

The buret is connected with the atmosphere and side arm leading to the reaction vessel through the three-way *T*-bore stopcock. The reaction vessel (*D*) of approximately 30 ml capacity is connected to the side arm of the buret by a 14/20 ground-glass joint which is secured by two steel springs. The reaction vessel is surrounded by a steam jacket which is connected to a steam line or steam generator.

The stopper (*E*) and side arm of the reaction vessel are equipped with a 10/12 ground-glass joint which is secured by a steel spring. The stopper extends into the reaction vessel and has a groove near the end for the wire handle of the sample cup.

The glass cup (*F*) for the sample is provided with a tight-fitting ground-glass stopper which prevents loss or gain of water during weighing. The cup has an inner diameter of 5 mm and a height of 15 mm. The cup fits into a Nichrome belt (*G*) with a Nichrome wire handle, so that it may be suspended on stopper (*E*).

Stirring is performed by a glass-covered steel rod of about 5 mm diameter and 18 to 20 mm length, which is made to spin by a commercially available rotary type magnetic stirrer.

Procedure.

The ground-glass joints of the apparatus are thoroughly lubricated, and the upper outlet of the buret is connected to a calcium chloride guard-tube for the exclusion of water vapor from the interior of the apparatus. The three-way stopcock is turned to connect the buret and the reaction vessel to the atmosphere. The mercury level in the buret is raised as close to the stopcock as possible.

Approximately 0.5 g of finely powdered calcium hydride, the stirring rod, and 5 ml of highly purified anhydrous pyridine are placed into the reaction vessel which is then attached to the side arm of the buret. The stirrer is set in motion and steam is supplied to the heating jacket of the reaction vessel. After 10 minutes of heating, the three-way stopcock is turned so that the buret is connected with the reaction vessel only. The heating and stirring are continued for 15 minutes more. Constancy of the level of the mercury in the buret then indicates that any water in the pyridine has been decomposed.

At the start of the determination, the stirring is stopped and the steam supply cut off. The apparatus is allowed to cool to room temperature, the three-way stopcock turned so that the buret is connected to the atmosphere and the reaction vessel. The mercury level is again adjusted as close to the stopcock as possible.

The cup with an amount of sample equivalent to 3–5 ml of hydrogen, is opened, suspended from the groove of stopper (*E*) and thus inserted through the side arm into the reaction vessel. The three-way stopcock is turned so that the buret is connected with reaction vessel only. The cup with the sample is dropped into the pyridine by turning the stopper (*E*) in its seat, and the stopper secured by the steel spring. The stirrer is set in motion, steam supply connected and the reaction mixture gradually heated to 100° C. This temperature is maintained until no more gas bubbles are evolved from the reaction mixture and the mercury level in the buret remains constant. The leveling bulb is moved during the liberation of hydrogen so that the mercury levels in buret and manometer do not differ by more than 1 to 2 ml.

For the measurement of the liberated hydrogen, the stirring is stopped, the steam supply disconnected and the apparatus allowed to cool to room temperature. When the level of the mercury in the buret has remained constant for 15 minutes, the volume of hydrogen, the temperature, and the barometric pressure are read and recorded.

Results.

Micro-gasometric water determination with 8 to 30-mg samples of barium chloride ($BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$), sodium acetate ($CH_3COONa \cdot 3\,H_2O$), sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3 \cdot 5\,H_2O$), sodium sulfate ($Na_2SO_4 \cdot 10\,H_2O$), and potassium-aluminum alum ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O$), gave results within 0.3% H_2O of the theory.

The procedure may be used, without change, for the determination of water in organic semi-solids, syrups, and liquids which cannot be prepared in the anhydrous state. This is often very useful since knowledge of the water content permits computation of the results of other determinations on the basis of a dry sample.

Summary.

The method of *Elitsur* for gasometric determination of water in hydrated salts by the liberation of hydrogen resulting from the interaction between calcium hydride and hydrated salt in pyridine medium has been made applicable to micro scale by the use of suitable apparatus and procedure.

Determinations of water of hydration are reproducible within 0.3% H_2O of the theory.

Zusammenfassung.

Das gasvolumetrische Verfahren von *Elitsur*, das auf der Entbindung von Wasserstoff beim Erhitzen der wasserhältigen Substanz mit Pyridin und Calciumhydrid beruht, wurde durch Wahl eines geeigneten Apparates und eines Vorgehens zur Entfernung von Feuchtigkeitsspuren aus Apparat und Reagensmischung unmittelbar vor Beginn der Bestimmung für die Ausführung im Mikromaßstab geeignet gemacht. Bestimmungen von Kristallwasser können innerhalb 0,3% H_2O vom Sollwert ausgeführt werden.

Résumé.

L'emploi d'un appareil et d'une technique convenables a permis d'étendre à l' échelle microanalytique la méthode de *Elitsur* pour le dosage gazométrique de l'eau dans les sels hydratés par dégagement d' hydrogène résultant de leur réaction sur l'hydrure de calcium en milieu pyridinique.

Les résultats obtenus sont reproductibles et diffèrent de moins de 0,3% H_2O des résultats théoriques.

Literature.

[1] *O. Notevarp*, Z. analyt. Chem. **80**, 21 (1930).
[2] *C. K. Rosenbaum* and *J. H. Walton*, J. Amer. Chem. Soc. **52**, 3568 (1930).
[3] *P. W. Perryman*, Analyst **70**, 45 (1945).
[4] *A. G. Elitsur*, J. Gen. Chem. (USSR) **10**, 1981 (1940).
[5] *A. G. Elitsur*, J. Appl. Chem. (USSR) **14**, 682 (1941).
[6] *A. G. Elitsur*, J. Gen. Chem. (USSR) **14**, 923 (1944).
[7] *A. G. Elitsur*, Zavodskaya Lab. **12**, 794 (1946).
[8] *A. G. Elitsur*, Biokhimiya (USSR) **16**, 81 (1951).
[9] *A. Soltys*, Mikrochem. **20**, 107 (1936).

From the Dirección Nacional de Química, Rosario, Argentina.

Rhodizonate as Reagent for Barium, Strontium, and Calcium.

By

Alberto J. Llacer.

With 1 Figure.

(Received March 29, 1955.)

It has been found that the sensitivity of the rhodizonate tests[1] is strongly affected by the p_H of the aqueous phase. The addition of a solution of dimethylamine hydrochloride permits identification of both barium and strontium in a single test.

A solution of rhodizonic and benzoic acids gives a characteristic crystalline precipitate with calcium.

Test for Barium and Strontium.

Reagents.

(a) Sodium rhodizonate, 0.5% solution. Just before use, dissolve 1.5 g of the solid reagent in 0.3 ml water. Do this in a 1-ml microcone, and centrifuge to obtain a perfectly clear solution.

(b) Dimethylamine hydrochloride. The reagent is usually partly liquified by the absorption of moisture. Take some of the saturated solution and treat it with an equal volume of 95% ethanol. A fresh mixture should be prepared at frequent intervals.

Performance of Spot Test.

Whatman filter paper No. 1 was found most satisfactory. The paper is first treated with a drop of rhodizonate solution and then allowed to dry somewhat. Hereafter, 10 μl of the neutral or slightly acid test solution is applied to the center of the impregnated zone by means of a capillary pipet with a fine tip. A brown or reddish brown stain appears immediately if barium or strontium is present.

Enough dimethylamine hydrochloride reagent is now added in the center of the stain so that it spreads through the paper beyond the limits of the stain. The color of the latter changes to bright red if barium is present, whereas the color gradually changes to a distinctive violet blue if the reddish brown spot is caused by strontium, present in a proper concentration (see Table I).

Table I. Sensitivity Data.

Test	Limiting Concentration	Limit of Identification μg	Limiting Proportions
Barium	1 : 666000	0.015	
Strontium, brownish red stain	1 : 83000	0.12	
violet blue stain	1 : 6600	1.5	330 Sr : 1 Ba
Calcium	1 : 33000	0.33	1 Ca : 150 Ba 1 Ca : 100 Sr
	1 : 40000	0.25	1 Ca : 880 Mg

If both barium and strontium are present, they may be recognized side by side. After treatment with dimethylamine hydrochloride reagent, the bright red spot of barium rhodizonate appears encircled by the violet blue ring of the strontium test which migrates with the solvent toward the periphery.

No stain is obtained in blank tests with freshly prepared rhodizonate solution.

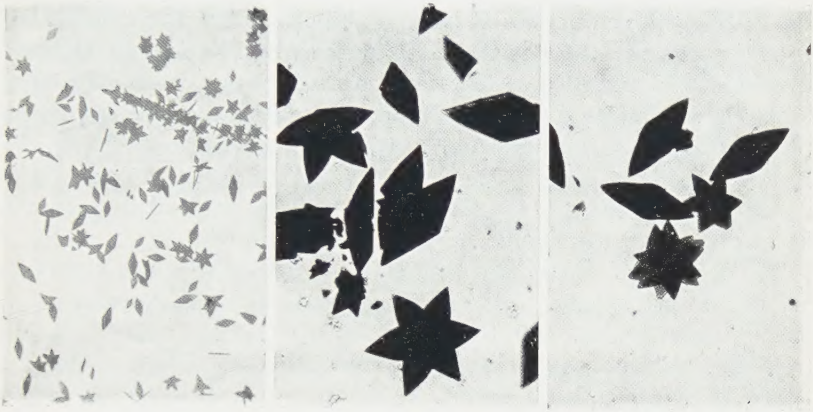
Slide Test for Calcium.

Reagent: Sodium rhodizonate, 0.5% solution. Immediately before use of the reagent, place 1.5 mg sodium rhodizonate into a 1-ml microcone, treat with 0.3 ml of a 0.1% solution of benzoic acid in a water-ethanol (1 : 1) mixture. Centrifuge to obtain a perfectly clear solution.

Performance of the Test.

Transfer approximately 10 μl of the test solution to a microscope slide and evaporate to dryness by proper application of heat. After the slide has cooled to room temperature, place upon the residue 10 μl of the reagent solution and observe under the microscope. A bright yellow to orange red precipitate separates within a short time if calcium is present. The crystals have the shape of single rhombs, cross-like rosettes, and stars (Fig. 1). If the concentration of the calcium approaches the limiting concentration, the crystals separate at the edge of the test drop

as the evaporation of the latter proceeds. In such instances, care must be taken to differentiate between the crystals of the calcium compound and those obtained on evaporation of the reagent solution.



a *b* *c*

Fig. 1. Test for Calcium with Rhodizonic and Benzoic Acids.

Sensitivity of the Tests.

The described tests are hindered by the presence of ammonia or strong bases. *Feigl*[1] has pointed out that heavy metals must be absent since they give colored precipitates with rhodizonate. Obviously, anions which precipitate the alkaline earths (arsenate, carbonate, oxalate, sulfate, etc.) should be absent.

The sensitivity of the spot tests is strongly affected by the p_H, and the limiting concentration 1 : 90000 claimed by *Feigl* for the barium test cannot be obtained when treating the spot with 1 : 20 hydrochloric acid[1] since such a limiting concentration requires a p_H of not less than 3. Use of the water-alcohol solution of dimethylamine hydrochloride (p_H 4.5 to 5.5) in place of dilute hydrochloric acid improves the sensitivity to give the values listed in Table I.

Calcium gives a precipitate also with rhodizonate and phenol. The crystals obtained with rhodizonic-benzoic acid reagent, however, are superior in stability and distinctive appearance.

Separation and Identification of Barium, Strontium, Calcium, and Magnesium.

When several of the elements of the alkaline earths group are present in a solution, separation is required for adequate testing. The procedure of *Benedetti-Pichler*, *Crowell*, and *Donahoe*[2] was tried first. A few changes

had to be introduced to render the procedure suitable for the confirmatory tests with rhodizonate. A solution containing 10 mg/ml each of barium, strontium, and calcium and 250 mg/ml of magnesium was used, and the whole group was precipitated as carbonate. The precipitates P 152 and P 154 of the chromates of barium and strontium were treated with 70–72% perchloric acid and the chromium removed as chromyl chloride[3]. Perchloric acid and nitric acid were also used for the destruction of the oxalate in precipitate P 156[4]. The proposed confirmatory tests for barium and strontium, however, were not as satisfactory as expected. Elimination of the chromium seemed incomplete, and the remaining chromium probably interfered with the tests. The calcium test was disturbed by the presence of some barium or (and) strontium.

The scheme of separation outlined in Table II was then tried and was found satisfactory. The confirmatory tests could be carried out without interferences, and the estimation of the amounts of barium, strontium, calcium, and magnesium was reliable within $\pm 10\%$ to $\pm 20\%$ of the quantities present.

Table II. Scheme of Separation.

<table>
<tr><td colspan="3">The precipitate of the carbonates of Ba, Sr, Ca, and Mg is dissolved.
One fourth of the approximately neutral test solution is used for a spot test for barium and strontium.
Three fourth of the solution are treated with ammonium sulfate:</td></tr>
<tr><td>Precipitate: $BaSO_4$, $SrSO_4$. Used for the estimation of the total amount of Ba + Sr.</td><td colspan="2">Centrifugate treated with potassium oxalate:</td></tr>
<tr><td></td><td>Precipitate: CaC_2O_4. Used for estimating the amount of calcium. Oxalate destroyed by heating with $HClO_4$ and solution of residue tested with rhodizonic-benzoic acid.</td><td>Centrifugate precipitated with phosphate. Precipitate of $MgNH_4PO_4 \cdot 6\,H_2O$ used for estimating the quantity of magnesium and finally recrystallized for purpose of confirmation.</td></tr>
</table>

Precipitation of Alkaline Earths. In a 1-ml microcone treat 10 μl of the unknown solution with 15 μl of ammonium carbonate reagent[4] and 15 μl of 95% ethanol. If the precipitate is large, add 15 μl more of each of these reagents. Stir with a glass thread, attach to the vibrator, shake intermittently for 10 minutes, and centrifuge. Remove the supernatant solution and wash the precipitate with a little ammonium carbonate reagent.

Preparation of the Test Solution. Treat the carbonate precipitate with 5 to 15 μl of 6-M acetic acid and warm on the steam bath until the

carbonates are dissolved. Evaporate the solution to dryness with the use of the steam bath and a current of air. Treat the residue with 20 μl 12-M hydrochloric acid and again evaporate to dryness. Extract the residue with two 10-μl portions of water. The resulting 20 μl of solution are referred to as test solution.

Confirmatory Test for Barium and Strontium. Use 5 μl of the test solution.

Estimation of the Amount of Barium and Strontium. Treat the remaining 15 μl of the test solution in a 1-ml microcone with 5 μl water and 5 μl of 6-M acetic acid. Add 2-μl portions of 0.5-M ammonium sulfate until the precipitation is complete. Stir and digest on the steam bath for 2 minutes. Allow to stand until the mixture acquires room temperature, and then centrifuge. Estimate the amount of both barium and strontium present by comparing the precipitate with a known amount of strontium sulfate.

Estimation of the Amount of Calcium. Transfer the centrifugate from the sulfate precipitate to another 1-ml microcone. Add 6-M ammonia until the solution is just alkaline to phenolphthalein. Then add 3 μl more of the ammonia. Mix the solution with a like volume of water and then add 3 μl of 1.5-M potassium oxalate. Stir and let the mixture stand for 15 minutes or until a precipitate appears, whichever happens first. Heat the mixture to 70–80° C and treat the hot solution with small portions of potassium oxalate reagent. Add about 3 μl to 10 μl more of the potassium oxalate depending upon the amount of calcium and magnesium to be expected judging by the volume of the carbonate precipitate. Heat 5 minutes on the steam bath. Centrifuge at once and transfer the centrifugate to another microcone by means of a capillary siphon. Wash the precipitate with 2 portions of water. Estimate the amount of calcium by comparison with the volume of a known quantity of calcium oxalate.

Confirmatory Test for Calcium. Dissolve the calcium oxalate in 10 μl 16-M nitric acid. Transfer the solution to a 1-ml platinum crucible and cautiously evaporate to dryness. To the residue add 30 μl of 70–72% perchloric acid and slowly evaporate to dryness. After cooling to room temperature, extract the residue with little water and use the solution for the slide test with rhodizonic and benzoic acid.

Estimation and Confirmation of Magnesium. To the centrifugate from the calcium oxalate precipitate add 5 μl 15-M ammonia and 25 μl of 0.3-M disodium-hydrogen phosphate. Cool and allow to stand for 30 minutes with frequent shaking and touching to the vibrator. Centrifuge and compare the volume of the precipitate with that of a known amount of magnesium-ammonium phosphate hexahydrate. Wash the precipitate once with 95% ethanol and then dissolve it in enough 6-M acetic acid

to give a solution containing about 5 μg/μl magnesium. Transfer all or a portion of the solution to a slide and expose to the fumes of ammonia. Separation of characteristic crystals of the magnesium-ammonium phosphate hexahydrate prove the presence of magnesium.

Summary.

The specificity and sensitivity of the spot tests for barium and strontium is improved by treating the brownish red rhodizonate fleck with a solution of dimethylamine hydrochloride. Calcium may be identified by the separation of characteristic crystals after adding a solution of rhodizonic and benzoic acids. A simple scheme of separation has been developed, which makes use of these confirmatory tests.

Zusammenfassung.

Die Spezifität und Empfindlichkeit der Tüpfelproben für Barium und Strontium wird durch Behandlung des mit Natriumrhodizonat erhaltenen Tüpfelfleckes mit Dimethylaminhydrochlorid verbessert. Calcium kann durch die Abscheidung von charakteristischen Kristallen nachgewiesen werden, die nach Zugabe einer Lösung von Rhodizonsäure und Benzoesäure erhalten werden. Ein einfacher Trennungsgang wurde ausgearbeitet, der die nutzbringende Verwendung dieser Nachweisproben möglich macht.

Résumé.

La spécificité et la sensibilité de la recherche du baryum et du strontium par essais à la touche sont améliorées en traitant la tache rouge brunâtre de rhodizonate par une solution de chlorhydrate de diméthylamine. Le calcium peut être identifié par la séparation de cristaux caractéristiques après addition d'une solution d'acides rhodizonique et benzoïque. On a mis au point un schéma simple de séparation dans lequel on fait usage de ces tests de confirmation.

Literature.

[1] *F. Feigl*, Qualitative Analysis by Spot Tests. New York: Elsevier. 1946.

[2] *A. A. Benedetti-Pichler*, *W. R. Crowell*, and *Cl. Donahoe*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **11**, 117 (1939).

[3] *A. A. Benedetti-Pichler* and *W. F. Spikes*, Mikrochem., Molisch-Festschrift 27 (1936).

[4] *A. A. Noyes* and *W. C. Bray*, A System of Qualitative Analysis for the Rare Elements. New York: Macmillan. 1927.

Aus dem Laboratorium der Metallhütte Mark A. G., Hamburg-Wilhelmsburg.

Chelatometrie. II*. Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) und das Kupfer(II)/Kupfer(I)-Redoxsystem.

Maßanalytische Mikrobestimmung des Kupfers und der EDTA mit visueller Redoxindikation.

Von

Peter Wehber.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 9. Mai 1955.)

Die Anwendbarkeit des Kupfer(II)/Kupfer(I)-Redoxsystems für EDTA-Titrationen wurde schon vor einigen Jahren von *Přibil, Koudela* und *Matyska*[1] vermutet. Später zeigte *Přibil*[2], daß die direkte potentiometrische Kupferbestimmung möglich ist, wenn durch eine Spur Ammoniumrhodanid eine geringe Kupfer(I)-Ionenkonzentration erzeugt wird. Im folgenden soll die Kupferbestimmung mit EDTA und die umgekehrte Titration von EDTA mit Kupfer(II)-salz-Maßlösung mitgeteilt werden.

Titration des Kupfers mit EDTA gegen Variaminblau B-Base als Redoxindikator.

Prinzip der Methode.

Der von *Erdey* und *Bodor*[3] beschriebene und durch *Flaschka*[4] in die Komplexometrie eingeführte Redoxindikator Variaminblau B-Base wird im p_H-5,5-Acetatpuffer durch Kupfer(II)-chlorid nur sehr langsam oxydiert. Setzt man aber reichlich Ammoniumrhodanid zu, so wird die Leukobase sofort violett. Ammoniumrhodanid verringert die in einer chloridhaltigen Kupfer(II)-salz-Lösung enthaltene, geringe, freie Kupfer(I)-Ionenkonzentration stark. Kupfer(I)-rhodanid ist wesentlich schwerer löslich als Kupfer(I)-chlorid:

I. $Cu^+ + Cl^- = CuCl$; $\log K = 6{,}7$.

II. $Cu^+ + SCN^- = CuSCN$; $\log K = 13{,}4$.

* Mitteilung I dieser Reihe: Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 812.

Das scheinbare Redoxpotential des $Cu^{2+} + Cl^-/CuCl$-Systems erhöht sich also durch Ammoniumrhodanid um zirka 0,4 V. Wird eine solche Lösung mit EDTA titriert, so werden nur die Kupfer(II)-Ionen komplex gebunden:

III. $Cu^{2+} + Y^{4-} = CuY^{2-}$; $\log K = 18{,}80^5$. Y^{4-} = Anion der EDTA.

Deshalb fällt bei Titrationsende das Redoxpotential stark ab. Variaminblau B-Base (E_0 = zirka + 0,4 V bei p_H 5,5[3]) wird schnell reduziert. Das bei Indikatorzusatz gebildete Kupfer(I)-rhodanid wird wieder oxydiert. Diese Kupfer(II)-Ionen werden ebenfalls durch EDTA erfaßt.

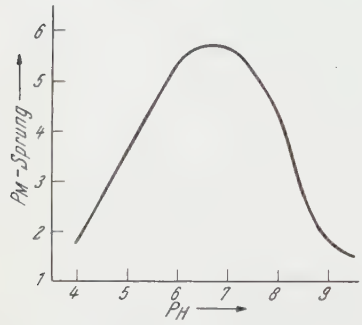


Abb. 1. p_H-Abhängigkeit des p_M-Sprunges des Cu^{2+}-EDTA-Systems beim Äquivalenzpunkt. Gezeichnet nach *Schwarzenbach*[6].

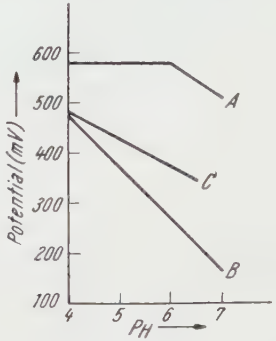


Abb. 2. Potential-p_H-Diagramm des $Cu(SCN)_2$-EDTA-Systems kurz vor (*A*) und kurz nach (*B*) dem Äquivalenzpunkt sowie der Variaminblau B-Base (*C*).

Abb. 1 zeigt die p_H-abhängigen p_M-Sprünge, die bei Titration von Kupfer(II)-Ionen mit EDTA nach *Schwarzenbach*[6] etwa erhalten werden. Mit Hilfe der von *Schwarzenbach*[6] gegebenen Titrationskurven des Kupfers mit EDTA, dem Logarithmus der Gleichgewichtskonstanten von II und dem Normalpotential des Redoxsystems Cu^{2+}, Cu^+, $E_0 = +0{,}153$ V[7], wurde das Potential-p_H-Diagramm der Abb. 2 berechnet*. Oberhalb p_H 6 wird das Arbeiten mit dem Redoxindikator kritisch[3]. Erdalkalien beginnen zu stören. Der theoretisch günstigste Arbeitsbereich liegt also zwischen p_H 5 und 6.

Leider wird die Titration durch einen unerwünschten Redoxvorgang gestört. Kupfer(II)-rhodanid wirkt auf einen Rhodanidionenüberschuß langsam irreversibel oxydierend ein. Dabei bilden sich neben Cyanwasserstoffsäure nach *Latimer*[8] Sulfit-Ionen, nach *Charlot*[9] Sulfat-Ionen. Das Redoxpotential dieses Vorganges wird mit $E_0 = +0{,}55$ V[8] bzw. $E_0' = +0{,}57$ V für p_H 0 bis zirka 7,5[9] angegeben. Bei dieser irreversiblen Oxydation entsteht Kupfer(I)-rhodanid. Dieses wird nicht erfaßt und

* Ohne Berücksichtigung weiterer, noch in der Lösung vorhandener Komplexbildner!

man erhält zu niedrige Werte. Die Titrationsbedingungen sind deshalb so zu wählen, daß diese Störung klein gehalten bzw. ganz ausgeschaltet wird. Zur Festlegung günstigster Arbeitsbedingungen gab man 1,0 g Ammoniumrhodanid in 50 ml acetatgepufferte Kupfer(II)-chlorid-Lösung vom p_H 5 und ließ bis zu Titrationsbeginn verschieden lange einwirken. Die Temperatur betrug 13 bis 14° C, die Titrationsdauer mit 0,01-m EDTA 75 bis 90 Sekunden. Der Redoxindikator Variaminblau B-Base (1 Tropfen einer 1%igen Lösung) wurde erst kurz vor Titrationsende zugegeben, um einen möglichen Einfluß auszuschließen. Einige so erhaltene Daten gibt Tabelle 1. Nach Zugabe des Ammoniumrhodanids ist also sofort zu titrieren.

Tabelle 1. Zeitabhängigkeit der Oxydation von Ammoniumrhodanid durch Kupfer(II)-rhodanid. Titration mit 0,01-m EDTA.

mg Cu			Zeit in Minuten
gegeben	gefunden	Differenz	
2,50	2,34	— 0,16	5,0
2,50	2,46	— 0,04	2,5
2,50	2,50	0,00	1,25
2,50	2,51	+ 0,01	0,0

Unter ähnlichen Bedingungen wurde der Einfluß der Temperatur untersucht. Nach Zugabe von 1 Tropfen Variaminblau B-Base und 1,0 g Ammoniumrhodanid wurde sofort titriert. Titrationsdauer zirka 55 bis 80 Sekunden. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 2. Die günstigste Titrationstemperatur liegt bei etwa 15° C. Bei dieser Temperatur ist die Bildungsgeschwindigkeit des Kupfer-EDTA-Komplexes immer noch so groß, daß man einen scharfen Endpunkt erhält. 22° C soll nicht überschritten werden. Zur Sicherheit ist vor der Titration abzukühlen.

Tabelle 2. Temperatur bei Titration von Kupfer(II)-rhodanid mit 0,01-m EDTA.

mg Cu			Temperatur bei Titrationsbeginn °C
gegeben	gefunden	Differenz	
2,50	1,98	— 0,52	50
2,50	2,16	— 0,34	43
2,50	2,46	— 0,04	30
2,50	2,48	— 0,02	26
2,50	2,51	+ 0,01	23
2,50	2,50	0,00	19
2,50	2,50	0,00	14

Weiters wurde untersucht, ob die Variaminblau B-Base durch Kupfer-(II)-rhodanid irreversibel oxydiert wird. Dafür wiederholte man die Versuche der Tabelle 1. Die Variaminblau B-Base wurde jetzt aber zusammen mit dem Ammoniumrhodanid zugegeben. Bei irreversibler Indikatoroxydation müßten sich die Unterbefunde an Kupfer vergrößern. Experimentell wurden aber die gleichen Ergebnisse wie in Tabelle 1 erhalten. Eine nennenswerte irreversible Oxydation der Variaminblau B-Base findet also nicht statt.

Zur Wahl des günstigsten p_H-Bereiches für die Titration wurde schon eingangs gesprochen. Unterhalb p_H 4,5 wird der Indikatorumschlag mit abnehmendem p_H immer schwieriger wahrnehmbar, vor allem in Gegenwart von 2 mg übersteigenden Kupfermengen. Oberhalb $p_H \sim 6{,}5$ bleibt der Indikatorumschlag ganz aus. Wie theoretisch vorausgesagt, liegt der Arbeitsbereich zwischen p_H 5 und 6. Am günstigsten titriert man bei p_H 5,0 bis 5,5.

Reagenzien.

1. *Zirka 0,01-m EDTA-Lösung:* 2,921 g Äthylendiamintetraessigsäure (H_4Y), Trilon BS der Badischen Anilin- & Soda-Fabrik AG., Ludwigshafen/Rh., werden mit 0,8 g Natriumhydroxyd (p. a.) und wenig Wasser gelöst. Mit Amberlite-Wasser wird auf 1 l aufgefüllt. Zur Aufbewahrung dient eine Polyäthylenflasche.

2. *Amberlite-Wasser:* Einfach dest. Wasser wird einige Minuten mit „Mischbett"-Ionenaustauscherharz Amberlite MB 3 (Rohm & Haas, USA) geschüttelt. Anschließend Filtration durch ein Faltenfilter.

3. *0,01-m Kupfer(II)-chlorid-Lösung:* 0,7954 g Kupfer(II)-oxyd, p. a., werden in zirka 5 ml heißer Salzsäure (1 : 1) gelöst und im 1-l-Meßkolben mit Amberlite-Wasser aufgefüllt.

4. *Natriumacetat*, p. a., 10%ig in Wasser.

5. *Salzsäure*, p. a., 2-n.

6. *Variaminblau B-Base** (4-Amino-4'-methoxy-diphenylamin), technisches Produkt, zirka 1%ig in 0,1-n HCl[3]: 1 g angefeuchtete Variaminblau B-Base fein verreiben, mit 0,1-n HCl auf 100 ml verdünnen und filtrieren.

Arbeitsvorschrift.

Die schwach saure Kupfer(II)-chlorid-Lösung wird mit Natriumacetat auf etwa p_H 5,5 gebracht. p_H-Einstellung durch Tüpfeln gegen p_H-Papier. Die Temperatur der Lösung betrage zirka 15° C. Nach Zusatz von 1 Tropfen Variaminblau B-Base und 1 g Ammoniumrhodanid wird sofort titriert. Titrationsende bei Farbumschlag von Violett über ein violettstichiges Hellblau nach Hellblau-grünlich.

* Lieferbar durch Exportfirma „Chemolimpex", Budapest.

Bemerkung: Eine Kupfer(II)-chloridlösung, 2 bis 3 mg Kupfer in 50 ml enthaltend, färbt sich auf Zusatz von 1 g Ammoniumrhodanid intensiv gelbgrünlich. Diese Farbe verdeckt zu Titrationsbeginn das Violett der oxydierten Variaminblau B-Base. Bis zum Auftreten einer reinen Violettfärbung darf man die EDTA-Maßlösung schnell zulaufen lassen.

Beleganalysen.

Einstellung der zirka 0,01-m EDTA-Lösung gegen 0,01-m Zinkchlorid-Lösung, aus Zinkoxyd-Einwaage bereitet, gegen Eriochromschwarz T. Faktorkontrolle der Kupfer(II)-chlorid-Lösung mit EDTA-Maßlösung gegen Murexid. Titration aus 10-ml-Büretten mit 0,02-ml-Teilung. Titrationsergebnisse bringt Tabelle 3.

Tabelle 3. Titration von Kupfer(II)-rhodanid mit 0,01-m EDTA gegen Variaminblau B-Base.

mg Cu		
gegeben	gefunden	Differenz
0,08	0,09	+ 0,01
0,11	0,12	+ 0,01
0,15	0,15	0,00
0,19	0,19	0,00
0,25	0,25	0,00
0,31	0,32	+ 0,01
0,38	0,38	0,00
0,44	0,43	— 0,01
0,50	0,51	+ 0,01
0,56	0,57	+ 0,01
0,63	0,62	— 0,01
0,94	0,94	0,00
1,25	1,25	0,00
1,63	1,63	0,00
1,88	1,86	— 0,02
2,13	2,12	— 0,01
2,32	2,31	— 0,01
2,50	2,50	0,00
3,13	3,13	0,00

Bei Lösungen, die mehr als zirka 3 mg Kupfer in 50 ml enthalten, wird die Endpunktserkennung durch den blaugefärbten Kupfer-EDTA-Komplex erschwert. Die Titration eignet sich deshalb nur für geringe Kupferkonzentrationen. Die erreichbare Genauigkeit ist durch den Tropfenfehler bedingt.

Es kann vorausgesagt werden, daß andere Redox-Systeme stören. Weiter stören die zahlreichen Ionen, die bei p_H 5 bis 6 stabile EDTA-Komplexe bilden.

Die Simultanbestimmung salzsaurer Eisen- und Kupfer-Lösungen mit EDTA gegen Variaminblau B-Base ist leider nicht möglich. Die Titration einer Eisen(III)-chlorid-Lösung nach *Flaschka*[4] bei p_H 2 bis 3 wird durch die Anwesenheit von Kupfer(II)-Ionen gestört. Diese sollen nach *Přibil*[10] die Indikatoroxydation katalytisch beeinflussen bzw. den Indikator schnell zersetzen[11]. Nun liegt aber das scheinbare Redoxpotential einer Kupfer(II)-chlorid-Lösung vom p_H 3 nahe beim Potential der Variaminblau B-Base, $E_0 \sim + 0{,}55$ V. Aus diesem Grunde reduzieren die bei Zusatz der Variaminblau B-Base entstandenen und die ohnehin in einer Eisen(III)-salz-Lösung vorhandenen Eisen(II)-Ionen bei Titrationsende Kupfer(II)-chlorid zu Kupfer(I)-chlorid. Der Redox-

indikator wird nicht völlig reduziert. Da der CuY^{2-}-Komplex noch bis zu p_H 2,5 herunter stabil ist, sinkt das Kupfer-Redoxsystem bei weiterem EDTA-Zusatz langsam ab. Nach erheblichem EDTA-Mehrverbrauch, der von der Kupfer(II)-salz-Menge abzuhängen scheint, kommt es zum schleppenden Farbumschlag der Blaubase.

Titration der EDTA mit Kupfer(II)-chlorid gegen Variaminblau B-Base als Redoxindikator.

Diese Titration wird ganz analog der eben beschriebenen durchgeführt. Die Vorsichtsmaßnahmen gegen unerwünschte Oxydation von Rhodanid-Ionen entfallen natürlich. So kann z. B. ohne weiteres bei einer Temperatur von 40° C titriert werden.

Tabelle 4. Titration von EDTA mit 0,01-m Kupfer(II)-chlorid in Gegenwart von Ammoniumrhodanid und Variaminblau B-Base.

mg Na_2H_2Y		
gegeben	gefunden	Differenz
0,73	0,73	0,00
1,09	1,09	0,00
1,81	1,81	0,00
2,90	2,87	— 0,03
3,62	3,62	0,00
4,57	4,52	— 0,05
5,43	5,43	0,00
5,80	5,80	0,00
6,81	6,86	+ 0,05
7,25	7,15	— 0,10
8,40	8,46	+ 0,06
10,87	10,88	+ 0,01
14,48	14,50	+ 0,02
16,67	16,68	+ 0,01
18,12	18,17	+ 0,05

Arbeitsvorschrift.

Die EDTA-Lösung wird mit Salzsäure und Natriumacetat auf $p_H \sim 5{,}5$ eingestellt. Man fügt 1 Tropfen Variaminblau B-Base und 1 g Ammoniumrhodanid zu. Titration unter kräftigem Umschwenken mit Kupfer(II)-chlorid-Maßlösung bis zum Umschlag von Farblos bzw. Hellblau (Farbe des Kupfer-EDTA-Komplexes) nach deutlich Violett. Die Temperatur betrage etwa 20 bis 30° C.

Als Indikatorkorrektur bei Titration von etwa 1 bis 18 mg EDTA in 50 ml Lösung wurden 0,027 ml der 0,01-m Kupfer(II)-chlorid-Maßlösung abgezogen.

Beleganalysen.

Einstellung der Lösungen wie vorher. Ergebnisse gibt Tabelle 4.

Herrn Prof. Dr. *L. Erdey*, Budapest, danke ich vielmals für den Redoxindikator Variaminblau B-Base. Weiter gilt mein Dank der Badischen Anilin- & Soda-Fabrik AG., Ludwigshafen/Rh., für die Überlassung von Trilon-Produkten sowie Herrn Dr. *O. Schmidt*, BASF. für eine in diesem Zusammenhang interessante Korrespondenz. Herrn

W. Johannsen, Leiter des Laboratoriums der Metallhütte Mark A. G., bin ich für seine Förderung dieser Arbeit verpflichtet.

Zusammenfassung.

In Gegenwart von reichlichen Mengen Ammoniumrhodanid sind Kupfer(II)-Ionen mit 0,01-m Äthylendiamintetraessigsäure gegen Variaminblau B-Base als Redoxindikator in schwach salzsaurer Lösung titrierbar. Auch die inverse Titration ist möglich. Der Bestimmungsbereich liegt unterhalb etwa 3 mg Kupfer bzw. 18 mg Äthylendiamintetraessigsäure.

Summary.

Cooper(II) ions can be titrated with 0.01 *M* ethylenediaminetetraacetic acid in the presence of much ammonium thiocyanate and in weakly hydrochlorid acid solution. Variamin blue B base serves as redox indicator. The reverse titration is likewise possible. The determination range lies below about 3 mg copper and 18 mg ethylenediaminetetraacetic acid, respectively.

Résumé.

Il est possible de titrer les ions Cu(II) par l'acide éthylènediaminetétracétique 0,01 M en présence de quantités importantes de sulfocyanure d'ammonium et de l'indicateur d'oxydoréduction «Variaminblau B-Base» en solution faiblement chlorhydrique. Le titrage inverse est également possible.

L'échelle analytique correspond à des quantités de substance à doser inférieures à environ 3 mg pour le cuivre et 18 mg pour l'acide éthylènediaminetétracétique.

Literatur.

[1] *R. Přibil, Z. Koudela* und *B. Matyska*, Coll. Czechosl. Chem. Com. **16**, 80 (1951).

[2] *R. Přibil*, Komplexometrie. Prag: Chemapol-Broschüre. 1954. S. 40.

[3] *L. Erdey* und *A. Bodor*, Z. analyt. Chem. **137**, 410 (1952/53).

[4] *H. Flaschka*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 361.

[5] *G. Schwarzenbach, R. Gut* und *G. Anderegg*, Helv. Chim. Acta **37**, 937 (1954).

[6] *G. Schwarzenbach*, Die komplexometrische Titration. Stuttgart: Enke. 1955. S. 17.

[7] *W. M. Latimer*, The Oxydation States of the Elements and their Potentials in Aqueous Solutions. 2. Aufl. New York: Prentice-Hall. 1952. S. 185.

[8] *W. M. Latimer*, l. c. S. 138.

[9] *G. Charlot*, Théorie et méthode nouvelles d'analyse qualitative. Paris: Masson. 1949. S. 298.

[10] *R. Přibil*, Komplexometrie. Prag: Chemapol-Broschüre. 1954. S. 34.

[11] *R. Přibil*, Coll. Czechosl. Chem. Com. **20**, 165 (1955).

From the Microanalytical Laboratory, Department of Organic Chemistry, The University, Liverpool, England.

The Microdetermination of Chlorine, Bromine, and Iodine in Organic Compounds.

By

A. S. Inglis.

With 1 Figure.

(Received May 11, 1955.)

Despite the number of papers published upon the microdetermination of halogens in organic compounds, not one method appears to have taken precedence over the others. The probable reason is that most methods require either considerable skill or time, or both, whereas many microanalytical laboratories are now forced to employ unskilled assistants in order to cope with increasing numbers of analyses. Consequently attention has been directed towards the quickest and simplest combustion procedure – fusion with sodium peroxide in a Parr micro bomb, and a titrimetric estimation of the halogen – potentiometric titration is preferred because the end point is least affected by personal errors and, if necessary, chlorine, bromine and iodine may be estimated in the same solution[1].

A literature survey showed that the *Parr* bomb procedure is generally a satisfactory method of decomposing organic compounds[2–4] but more recent workers have preferred other methods. The collaborative studies conducted by *Steyermark* and *Faulkner*[5] led them to decide that the *Carius* and catalytic combustion methods were superior to that with the *Parr* bomb. However, this conclusion was based on the results of bromine determinations only, as the figures for chlorine analyses showed that all methods were consistently accurate. Bromine figures for the Parr bomb procedure were inconsistent, but suggested that, as a reducing agent, sodium sulphite was preferable to hydrazine sulphate; the two collaborators who used the former reagent obtained excellent results. *Beamish*[6] and *Lévy*[2] however, found it unnecessary to add a reducing agent in the determination of bromine.

Lohr, *Bonstein* and *Frauenfelder*[7] recommended fusion with sodium in a bomb for the microdetermination of chlorine and bromine because they found that other methods failed with the more stable polychloro aliphatic and aromatic compounds as well as with some compounds containing fluorine. Fusion with potassium was preferred by *Belcher* and *Godbert*[8] for the analysis of fluorine in fluorocarbons. On the other hand, with the Parr bomb procedure *Lévy* obtained excellent results with polychloro aliphatic and cyclic compounds. In view of the conditions employed for the potassium fusion of fluorine compounds ($1^1/_4$ hours at 600–650° C), it would not be surprising if sodium peroxide was just as effective with more vigorous reaction conditions, especially as the normal procedure entails heating the bomb for only one minute in a flame from a gas burner. Inconsistent values were obtained in this laboratory with chlorine compounds of unknown structure[9] until the time and temperature of the fusion were increased. It was then necessary to replace the lead washer with one of "Klingerit" whilst the substances were probably completely decomposed judging from the amount of carbon formed in the reaction.

Application of a micro titrimetric halogen estimation after the Parr bomb procedure (or after fusion with an alkali metal) presents a major difficulty because the solution contains a high salt concentration which reduces the precision of the titration. Thus *Peel*, *Clark* and *Wagner*[10] found that the *Volhard* titration was not accurate enough, even working on a semi-micro scale, and *Wurzschmitt* and *Zimmermann*[3], who recommended potentiometric titration for the semi-micro determination, believed it to be too inaccurate for a micro determination. *Blaedel*, *Lewis* and *Thomas*[11] studied the micro determination of chloride ion in solutions of high ionic strength and found that most standard methods possess some shortcomings when applied to the rapid and routine determination. They recommended a potentiometric titration using a double silver–silver chloride electrode system. However, as the accuracy of the chloride determination of *Bather* and *Riley*[12] is far superior, it was evident that the best results for sodium peroxide fusions would be obtained only after removing the interfering salts prior to titration.

The method proposed for chlorine analyses in this paper therefore incorporates sodium peroxide fusion with more vigorous reaction conditions, replacement of the cations in the resulting alkaline solution with hydrogen ions and potentiometric titration of the halide ion with 0.005 N silver nitrate solution.

Kainz and *Resch*[13] experimented with a cation exchanger (Wofatit KS) during an investigation of a method for the determination of halogens involving fusion with potassium, but discontinued its use because the reaction was not complete after stirring the solution and the exchanger

for one hour. Initial experiments with a weakly acid type of cation exchanger (Zeocarb 215) and a strongly acid type [Amberlite IR 120 (H)] led to the belief that the former would be more suitable on account of its faster reaction although it had a smaller exchange capacity and was decomposed slightly by the alkaline solution. However, as the washing step was inconvenient using this batch operation, column operation as recommended by *Samuelson*[14] was used and it was found that complete exchange could be obtained with Amberlite IR 120 (H) using moderate filtration rates, if a smaller excess of sodium peroxide was taken for the fusion. The results using this technique were better but not greatly improved because the increase in solution volume (which increased the solubility of silver chloride) partly compensated for the removal of the interfering salts. The washing step was therefore eliminated by making the solution up to a standard volume and taking an aliquot of the effluent for the titration. This procedure was most satisfactory if the solution was made up to 50 ml first and a 10-ml aliquot taken for titration after the column had been washed with 30 ml. It had the disadvantages of a small titre, any error in the titration was multiplied five times and time and care were required when using the column.

In order to remove these objections a similar procedure was employed with batch operation: after washing the damp exchanger with a little of the accurately diluted alkaline solution, the remaining solution was added and stirred for 5 minutes; the supernatant liquid was decanted and a 25-ml aliquot taken for the titration. Hence the analyst is free during the exchange process whilst a larger aliquot may be titrated. A complete determination takes 35–40 minutes with this procedure which is ideal for series determinations as the analyst is free for at least 15 minutes during each analysis. When preparing the exchanger for this method care was taken to prevent it becoming dry, since it may shrink, absorb moisture when the solution is added and so give high results. It is sufficient to remove the excess water on a Büchner funnel and press it between filter papers before storing in a closed bottle; the subsequent rinsing in an analysis ensures that any moisture still present does not vitiate the results. The first analyses using the method indicated that some chloride ions were being absorbed by the exchanger, for the titre obtained for a standard sodium chloride solution was lower when the reagents were included in the standardization despite the presence of a blank value in the reagents. When the titre of an analysis was corrected for such a loss, results were also satisfactory. After the exchanger had been reactivated and reused two or three times this anomalous behaviour ceased. The end point voltage was not constant enough for application of the method of equivalent potentials but did give a good guide as to the approximate end point of the titration. It may be possible, however, to use the latter

method with more rigid control of temperatures and electrolyte concentration.

Table I shows the improvement in the titration effected by the present method: whereas the potential change at the end point is practically negligible when chloride ion is titrated after acidification of the alkaline solution, it is quite marked after using a cation exchanger; the addition of alcohol[15] further increases the sensitivity of the titration. It is also apparent that a cation exchanger is unnecessary for the determination of bromine and iodine as the electrodes are very sensitive to additions of 0.02 ml of 0.005 N silver nitrate solution, and, indeed, a more dilute solution could be employed to titrate the ions of these elements. This contrast with the findings of *Wurzschmitt* and *Zimmermann*[3] and *Lévy*[2] is probably due to the use of less oxidation mixture, to the addition of platinum black to assist in the decomposition of sodium peroxide and also to the use of a different electrode system[12].

Table I. Average Potential Changes at the Equivalence Point upon Addition of 0.005 N Silver Nitrate to Various Halide Solutions.

	ΔV (ml)	ΔE (mv)
Chloride Solutions:		
Alkaline solution made up to 50 ml, then		
(1) 10 ml taken, acidified and titrated	0.04	5.0
(2) after cation exchange		
(a) 10 ml titrated	0.04	19.5
(b) 10 ml titrated with 10 ml alcohol added	0.04	32.0
(c) 25 ml titrated with 25 ml alcohol added	0.06	27.0
Bromide Solutions:		
Alkaline solution acidified and titrated (ca. 35 ml)	0.02	25.0
Iodide Solutions:		
Alkaline solution acidified, treated with hydrazine sulphate and titrated (ca. 35 ml)	0.02	35.0

Some specimen results obtained with specially purified substances are shown in Table II. It may be seen that the accuracy and precision of the method is good, the standard deviation for 5 analyses of p-chlorobenzoic acid being 0.14%, whilst all analyses were within $\pm$ 0.3% of the theoretical value. Neither hexachlorobenzene nor o-chloro-benzotrifluoride required the vigorous conditions recommended in the procedure; the results were obtained after $1^1/_2$ minutes heating in a bomb with a lead washer. The former is one of the stable polychloro aromatic compounds referred to by *Lohr*, *Bonstein* and *Frauenfelder*[7], and the latter is an extremely stable fluorocarbon. These values further suggest that the

more drastic conditions with sodium peroxide fusions should suffice for chlorine, bromine and iodine compounds and may possibly shorten and simplify the analysis of fluorine in the more stable fluorocarbons.

Table II. Results of Chlorine, Bromine and Iodine Determinations with Pure Specimens.

Compound	Wt. (mg)	Titre* (ml)	Fd. (%)	Calc. (%)	Diff. (%)
p-Chlorobenzoic acid	8.057	10.17	22.39	22.65	— 0.26
	8.372	10.74	22.69	22.65	+ 0.04
	8.027	10.17	22.47	22.65	— 0.18
	3.820	4.90	22.71	22.65	+ 0.06
	3.780	4.86	22.75	22.65	+ 0.10
Hexachlorobenzene	3.534	14.95	75.01	74.70	+ 0.31
	3.603	15.23	74.91	74.70	+ 0.21
o-Chloro-benzotrifluoride	9.374	10.32	19.48	19.64	— 0.16
	6.341	6.94	19.37	19.64	— 0.27
p-Bromobenzoic acid	4.964	4.96	39.92	39.76	+ 0.16
	4.775	4.74	39.64	39.76	— 0.12
	4.386	4.39	39.98	39.76	+ 0.22
p-Bromoacetanilide	8.000	7.47	37.33	37.33	0.00
	6.652	6.22	37.39	37.33	+ 0.06
	7.081	6.59	37.20	37.33	— 0.13
o-Iodobenzoic acid	5.134	4.135	51.12	51.17	— 0.05
	5.141	4.17	51.45	51.17	+ 0.28

Standard deviation for p-chlorobenzoic acid = 0.14%.

* Actual titres for chlorine estimations corrected for blank values and multiplied by two; all titres converted to the equivalent of exactly 0.005 N silver nitrate solution.

Experimental.

Reagents.

Sodium peroxide M. A. R.: Pellets were powdered before use.

Potassium nitrate-sucrose mixture: Potassium nitrate M. A. R. (2 parts) and sucrose A. R. (1 part) were mixed and powdered. In order to measure the amounts of the reagents for the oxidation, flat bottomed scoops of appropriate capacity were made and kept in stoppered test tubes.

Sulphuric acid 9 N and 3 N: Commercial concentrated sulphuric acid was used in the preparation of the 3 N acid but the 9 N reagent was prepared from M. A. R. quality.

Bromothymol blue indicator 0.1%.

Amberlite IR 120 (H) A. R.

Hydrazine sulphate A. R.

Absolute Ethyl Alcohol, Halogen free.

Silver nitrate 0.005 N (0.8494 g/l).

Sodium chloride A. R.: Sodium chloride (3–5 mg) was dissolved in distilled water and diluted to 50 ml. A 25-ml aliquot was taken to standardize the silver nitrate solution.

Platinum black catalyst: A clean piece of platinum sheet (2.5 cm long, 1 cm wide) was made the cathode in a bath of platinic chloride (3%) containing a little lead acetate, against a platinum wire anode and electrolyzed for 10 minutes.

Electrodes.

Platinum electrode: Both the platinum electrode and the mercury-mercurous sulphate half cell were prepared similarly to those described by *Bather* and *Riley*[12]. A platinum wire (9 cm long, 1 mm diam.) was sealed into a glass tube (7 mm int. diam.) so that the platinum protruded about 7.5 cm. A copper wire was inserted in the tube and mercury added to provide the contact with the platinum. The electrode was cleaned by treatment with concentrated ammonium hydroxide, water and then with concentrated nitric acid. After washing, it was cathodically[16] polarized (100 mA, 15 minutes) in 1 N sulphuric acid. Electrode failure was always remedied by this treatment, or by resealing the platinum into the glass tube. The electrode was kept in distilled water and occasionally wiped with a clean filter paper.

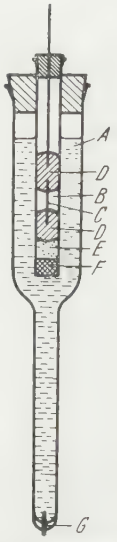


Fig. 1. Mercury-Mercurous Sulphate Reference Electrode.

Mercury–mercurous sulphate electrode: The reference electrode is shown in Fig. 1. The outer tube contained a saturated solution of potassium and mercurous sulphates (*A*) and contact was made with the halide solution via an asbestos wick (*G*) sealed into the bottom. The inner tube had a small solid section (*B*) towards the bottom containing a platinum wire (*C*) which provided contact with the mercury (*D*) of the cell. A paste of mercurous sulphate (*E*) next to the mercury was held in position by an asbestos plug (*F*).

Apparatus.

Cambridge Instruments p_H meter.

Mechanical stirrer: The solution was stirred mechanically during the titration by means of a glass propeller attached to a well earthed electric motor controlled by a rheostat.

Preparation of the Exchanger.

A quantity sufficient for 2 days work was prepared at a time. After use the exchanger was rinsed with 3 N sulphuric acid, then added to a beaker containing 3 N sulphuric acid and left overnight. It was washed acid-free with distilled water, filtered on a Büchner and then pressed between large filter papers until the excess water had been removed. The exchanger, which was still quite dark in colour, was stored in a stoppered bottle.

Procedure.

(1) *Chlorine:* Sodium peroxide (0.8 g) and the potassium nitrate–sucrose mixture (0.1 g) were shaken in a small weighing bottle and about a third of the mixture added to the cup of the nickel bomb (capacity 2 ml). The substance to be analysed, 3–10 mg, was weighed in a short handled weighing tube, carefully transferred to the bottom of the cup (liquids were weighed in small glass capillaries which were broken and dropped into the cup), then covered with most of the remaining fusion mixture. The contents were stirred very gently with a thin glass rod to effect complete mixing. The rod was broken, the bottom part left on the mixture and the lot finally covered with the small amount of oxidation mixture remaining in the weighing bottle. The lid which had a washer of "Klingerit", was placed in position and screwed down tightly.

The bomb was held with platinum tipped forceps in the nonluminous flame of a Bunsen burner for $2^1/_2$ minutes. It was heated rather gently for the first 20 seconds or so, after which it was heated more strongly, the eye at the base of the bomb becoming red by the end of the heating time. No special precautions were taken during this operation but it is advisable either to wear glasses or have a perspex screen between the bomb and the analyst. The bomb was cooled under the tap, dried with a clean towel and opened. The fused mixture should be almost entirely at the bottom of the bomb and have a blackish appearance.

The lid was held over a tall 100-ml beaker and rinsed with distilled water. The cup was placed in the beaker, a platinum black catalyst added, then distilled water until it half covered the bomb. A watch glass was placed over the beaker which was heated until the reaction began to accelerate, the burner was turned down quite low and the contents allowed to boil gently for 10 minutes, although it is quite evident that most of the peroxide is destroyed in the first 5 minutes. The watch glass, sides of the beaker, platinum black catalyst and cup were all carefully rinsed with distilled water (the last two being removed respectively with platinum tipped forceps and a bent platinum wire sealed into a glass rod) and allowed to cool to room temperature (20° C). The solution

was transferred to a 50-ml volumetric flask, the contents made up to 50 ml with distilled water and well mixed.

A 30-ml beaker was used to measure the amount of exchanger which was added until it was level with the bottom of the spout after a little tapping. The exchanger was added to a dry tall 100-ml beaker, rinsed with about 10–15 ml of the alkaline solution, and then mechanically stirred for 5 minutes with the remainder of the solution. The solution was decanted into a dry container and a 25-ml aliquot taken for the titration. As a precautionary measure a drop of bromothymol blue was added to ensure that the exchange process was complete.

Ethyl alcohol (25 ml) was added to the chloride solution which was stirred mechanically and 0.005 N silver nitrate solution added slowly until the change in e. m. f. of the cell began to increase upon addition of each drop. Then lots of either 0.04 or 0.06 ml were taken from the burette, the tip being rinsed with alcohol each time, and the readings noted when the potential was constant after each addition. The maximum change in potential indicated the vicinity of the equivalence point, but if the potential changes were not identical on either side of the maximum change, the exact equivalent point was calculated by finding when the second derivative of $\Delta E/\Delta V$ was equal to zero.

(2) *Bromine.* The solution of the fusion mixture was cooled in an ice bath and 9 N sulphuric acid added slowly with stirring until the solution was just acid to bromothymol blue. It was titrated potentiometrically, as above, but with additions of 0.02 ml of silver nitrate solution near the equivalence point.

(3) *Iodine.* The solution from the fusion was acidified with 9 N sulphuric acid using bromothymol blue as indicator. Hydrazine sulphate (100 mg) was added and the solution slowly brought to the boil (10 minutes). It was then cooled to room temperature and titrated as for a bromine solution.

Acknowledgement.

The author wishes to thank Professor *Alexander Robertson* for his interest and encouragement, Dr. *R. Belcher* of Birmingham University for kindly supplying the sample of o-chloro-benzotrifluoride and Mr. *D. G. Newman* for his assistance with the routine determinations.

Summary.

The use of the Parr bomb procedure in micro halogen determinations has two principle objections in that it is sometimes unreliable, and precise chloride determinations in particular are very difficult to obtain due to the presence of a high concentration of salts in the solution. The method proposed overcomes the former by use of more vigorous reaction conditions,

whilst the latter is avoided by application of cation exchange to the alkaline solution.

The halide ion is titrated potentiometrically, in the normal manner, with 0.005 N silver nitrate solution and an electrode system consisting of a platinum indicator electrode and a mercury-mercurous sulphate reference electrode. No difficulty was encountered in the determination of bromide and iodide ions, since the electrodes are very sensitive near the end point to 0.02-ml additions of the silver nitrate solution, even without an exchange reaction; this represents an improvement on similar methods previously reported and is probably due to the smaller amount of oxidation mixture taken, although the electrode system was different and platinum black was used to help destroy sodium peroxide.

The method is simple, rapid and suitable for series determinations.

Zusammenfassung.

Der Anwendung der Parr-Bombe für die Halogen-Mikrobestimmung stehen zwei grundsätzliche Einwände entgegen, denen zufolge sie einerseits manchmal unzuverlässig ist, anderseits aber wegen der hohen Salzkonzentration vor allem genaue Chlorbestimmungen nur schwer zu erhalten sind. Das vorgeschlagene Verfahren vermeidet den erstgenannten Nachteil durch Anwendung schärferer Reaktionsbedingungen, den zweiten durch Anwendung von Kationen-Austauschern für die alkalische Lösung.

Die Halogenionen werden in üblicher Art potentiometrisch mit 0,005-n Silbernitrat titriert, wobei eine Platin-Indikatorelektrode und eine Quecksilber-Quecksilber(I)sulfat-Bezugselektrode verwendet werden. Bei der Bestimmung von Bromid und Jodid wurden keine Schwierigkeiten beobachtet, zumal die Elektroden nahe beim Endpunkt gegen Zugaben von 0,02-ml-Portionen der Silbernitratlösung sehr empfindlich sind, und zwar auch ohne vorherigen Ionen-Austausch; darin liegt gegenüber früheren ähnlichen Methoden ein Vorteil, der vermutlich auf der Anwendung geringerer Mengen Oxydationsmittel begründet ist, obgleich auch ein anderes Elektrodensystem in Anwendung kam und Platinschwarz zur leichteren Zerstörung des Natriumperoxyds herangezogen wurde.

Die Methode ist einfach, rasch und für Serienbestimmungen geeignet.

Résumé.

L'emploi de la technique de la bombe de Parr pour le microdosage des halogènes comporte deux objections principales: elle manque quelque fois de sécurité et rend très difficile la détermination précise du chlore, en particulier, du fait de la haute concentration saline des solutions obtenues. La méthode proposée permet de pallier le premier inconvénient par la mise en oeuvre de conditions opératoires donnant lieu à une réaction plus énergique, tandis que le second est évité en appliquant la technique d'échange de cations à la solution alcaline.

L'ion halogène est titré potentiométriquement par la méthode classique, à l'aide d'une solution de nitrate d'argent 0,005 N et en employant un système d'électrodes composé d'une électrode indicatrice en platine et d'une électrode de référence mercure-sulfate mercureux.

La détermination des ions brome et chlore est effectuée sans difficulté car les électrodes sont très sensibles, à des additions de 0,02 ml de la solution de nitrate d'argent au voisinage du point final de titrage, même sans faire appel à une réaction d'échange: ce fait constitue une amélioration sur des méthodes similaires qui ont été publiées antérieurement; il résulte probablement de l'emploi d'une plus faible quantité de mélange oxydant bien qu'en outre le système d'électrodes soit différent et que la destruction du peroxyde de sodium soit favorisée par l'utilisation de noir de platine. La méthode est simple, rapide et convient aux déterminations en série.

Literature cited.

[1] *R. Lévy*, C. r. acad. sci., Paris **235**, 882 (1952).

[2] *R. Lévy*, Mikrochem. **36/37**, 741 (1950).

[3] *B. Wurzschmitt* and *W. Zimmermann*, Fortschr. chem. Forsch. **1**, 485 (1950).

[4] *A. Elek* and *R. A. Harte*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **9**, 502 (1937).

[5] *A. Steyermark* and *M. B. Faulkner*, J. Assoc. Off. Agric. Chemists **35**, 291 (1952).

[6] *F. E. Beamish*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **5**, 348 (1933).

[7] *L. J. Lohr*, *T. E. Bonstein* and *L. J. Frauenfelder*, Analyt. Chemistry **25**, 1115 (1953).

[8] *R. Belcher* and *A. L. Godbert*, Semi-micro Quantitative Organic Analysis, 2nd Ed. London: Longmans, Green and Co. 1954, p. 136.

[9] *W. B. Whalley*, Unpublished work.

[10] *E. W. Peel*, *R. H. Clark* and *E. C. Wagner*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **15**, 149 (1943).

[11] *W. J. Blaedel*, *W. B. Lewis* and *J. W. Thomas*, Analyt. Chemistry **24**, 509 (1952).

[12] *J. M. Bather* and *J. P. Riley*, J. cons. perm. intern. exploration Mer **18**, 277 (1953).

[13] *G. Kainz* and *A. Resch*, Mikrochem. **39**, 1 (1952).

[14] *O. Samuelson*, Ion Exchangers in Analytical Chemistry. New York: Wiley. 1953.

[15] *J. Epstein*, Bibliography of Scientific and Industrial Reports, U. S. Dept. of Commerce, PB-4041 (1945).

[16] *P. L. Allen* and *A. Hickling*, Analyt. Chim. Acta **11**, 467 (1954).

Aus dem analytischen Laboratorium der Firma Henkel & Cie. GmbH., Düsseldorf.

Mitteilungen über die direkte Sauerstoffbestimmung.

Von

A. Hintermaier und **R. Grützner.**

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 12. Mai 1955.)

Seit *Schütze* in seiner grundlegenden Arbeit[1] einen alten Gedanken von *Hempel*[2] aufgriff und im Anschluß an die Untersuchung von technischem Zinkstaub zeigen konnte, daß man in organischen Verbindungen den Sauerstoff direkt bestimmen kann, indem man die betreffende Substanz verkrackt und die entstehenden Gase und Dämpfe über eine erhitzte Rußschicht leitet, wobei Kohlenoxyd entsteht, ist eine große Anzahl von Arbeiten über dieses für den Elementaranalytiker sehr wichtige Gebiet veröffentlicht worden[3].

Zunächst übertrug *Zimmermann*[4] das Verfahren mit gewissen Abänderungen in den Mikromaßstab. Weitergehende Anwendung fand die Methode aber erst nach den Veröffentlichungen von *Unterzaucher*[5], der die Umsetzungstemperatur auf 1120° C festlegte und die gravimetrische Methode seiner Vorgänger zu einer titrimetrischen umgestaltete.

Die neueren Veröffentlichungen beschäftigen sich hauptsächlich mit der Frage, wie man den Blindwert ausschalten bzw. konstant halten kann. Auch wir kamen um solche Überlegungen nicht herum. Die zweite Frage, ob man gravimetrisch oder titrimetrisch arbeiten soll, hängt mit der ersten zusammen, da sich gezeigt hat, daß die Bildung von freiem Jod aus Jodpentoxyd nicht nur vom Kohlenoxydgehalt der Reaktionsgase abhängt.

Ohne im einzelnen auf die ziemlich komplizierten Fragen und ihre theoretischen Hintergründe einzugehen, möchten wir im folgenden einige Abänderungen von den bisher beschriebenen Arbeitsweisen mitteilen. Nach einer mehrjährigen Entwicklungszeit hat sich unsere Methode seit etwa zwei Jahren bei der praktischen Durchführung dieser Bestim-

mungen in unserem Laboratorium bewährt. Wir analysieren alle möglichen organischen Substanzen, deren Zusammensetzung vor der Analyse häufig unbekannt ist. Insbesondere können wir von vornherein nicht entscheiden, ob der Sauerstoffgehalt der zu untersuchenden Substanz hoch oder niedrig ist.

Zunächst störte uns die Kurzlebigkeit der Quarzrohre, die bei der ziemlich hohen Umsetzungstemperatur nach einiger Zeit brüchig werden. Wir verwenden deshalb seit Jahren *Porzellanrohre**, die innen und außen

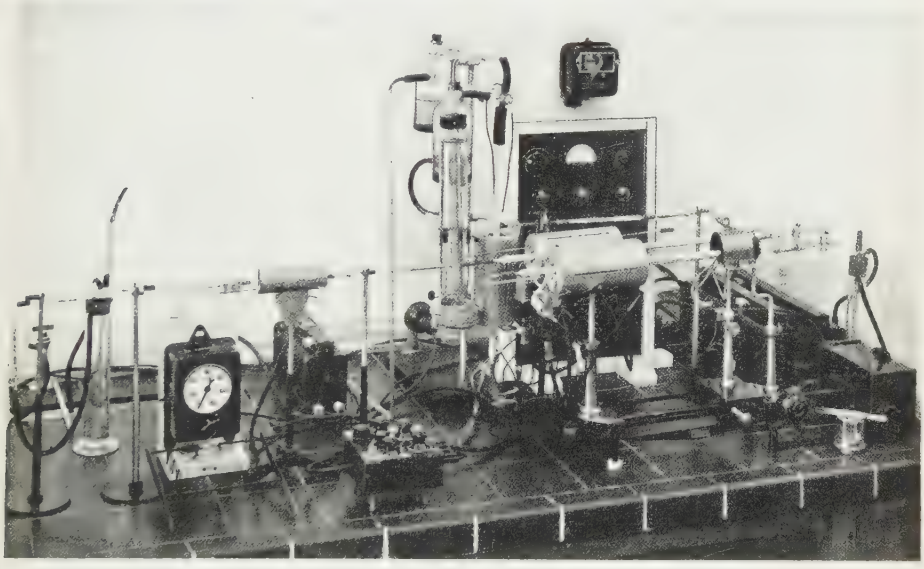


Fig. 1. Apparatur zur Sauerstoffbestimmung mit Zwillingsofen.

glasiert sind und vor der Verwendung graphitiert werden. Da auch Quarzrohre je nach der Qualität und der Art der Untersuchungssubstanzen nach kürzerer oder längerer Benutzungsdauer an der interessanten Stelle, wo das Schiffchen mit der Substanz liegt, blind werden, anderseits die Durchführung der Analyse vollkommen automatisch verläuft, hat die Undurchsichtigkeit der Porzellanrohre auf die Zuverlässigkeit der Resultate keinen Einfluß. Die Porzellanrohre sind bis 1200° C verwendbar, so daß gelegentliche Temperaturüberschreitungen, die während der Entwicklungszeit manchmal auftraten, nicht zu ihrer Zerstörung führen. Quarzrohre sind dagegen viel empfindlicher. Sie sind nur einige Wochen lang verwendbar, während wir mit einem Porzellanrohr bei täglicher Benutzung vier Monate lang auskommen.

* Lieferanten: Staatl. Porzellanmanufaktur Berlin, Werk Salb oder Haldenwanger, Berlin-Spandau.

Die *Temperaturkonstanz* ist ein wesentlicher Faktor für die Erzielung zuverlässiger Resultate[6]. Wir haben deshalb nach einer befriedigenden Methode zur Konstanthaltung der Temperatur von 1000° C auch bei größeren Schwankungen der Netzspannung gesucht. Unser Gerät, das die Temperatur auf $\pm 5°$ C konstant zu halten gestattet, arbeitet folgendermaßen:

Der wie üblich vorregulierte 42-V-Strom wird einer Messingwalze zugeführt. Diese Messingwalze von 6,5 cm Durchmesser macht in der Minute eine Umdrehung. Über den Mantel der Walze gleiten Tastfinger, die den Strom für die einzelnen zu regulierenden elektrischen Öfen abnehmen. Der Mantel der Walze ist in dreieckige Felder aufgeteilt, die wechselweise stromführend und stromlos sind.

Die Messingsegmente werden durch ein Kunststoffutter zusammengehalten, sind also gegeneinander isoliert. Wenn der Tastfinger an der Basis der Walze und der stromführenden Dreieckssegmente gleitet, fließt mit geringen Unterbrechungen während der ganzen Zeit Strom durch den zu beheizenden Ofen. Gleitet dagegen der Tastfinger in größerem Abstand von der Basis der Trommel über den Walzenmantel, so folgen auf kürzere Beheizungszeiten in der Minute drei Unterbrechungen des Stromes. Der Abstand der Gleitfinger von der Basis der Trommel, das heißt das Verhältnis der Beheizung zur stromlosen Zeit, wird durch Drehknöpfe eingestellt. Das Reguliergerät kann für eine Anzahl von Öfen dienen*.

Als *Transportgas* verwenden wir „Stickstoff für wissenschaftliche Zwecke“**. Zur Feinreinigung leiten wir den Bombenstickstoff nach der üblichen Druckregelung durch einen Ofen, der genau so mit Ruß beschickt ist wie der eigentliche Analysenofen und wie dieser auf 1000° C gehalten wird. Dabei reagieren alle umsetzbaren Verunreinigungen des Trägergases. Anschließend wird der Stickstoff über Jodpentoxyd geleitet, das entstandene Kohlendioxyd über Natron-Asbest, Jod in Kaliumjodidwatte und Feuchtigkeit über Phosphorpentoxyd auf Bimssteinstückchen festgehalten. Das so gereinigte Trägergas tritt dann in den eigentlichen Analysenofen ein.

Um vom Sauerstoffgehalt der Analysensubstanz und der Höhe der Einwaage unabhängig zu werden, leitet man das den ersten Analysenofen verlassende Gasgemisch durch einen *zweiten Analysenofen*.

Die beiden Öfen stehen, wie aus der Abbildung ersichtlich ist, parallel hintereinander. Beschickung und Masse der beiden Öfen und der Porzellanrohre sind die gleichen. Dieses Hintereinanderschalten zweier Öfen halten wir für bequemer als die Konstruktion eines einzigen langen Ofens. Die

* Das beschriebene Regelgerät wurde in der mechanischen Werkstatt der Firma Henkel & Cie. von Herrn *Aug. Url* konstruiert und ausgefertigt.

** Bezogen von der „Gesellschaft für Lindes Eismaschinen“, Nürnberg.

damit erzielte Verdoppelung der Reaktionszeit hat sich dann als nötig erwiesen, wenn Analysensubstanzen mit 50% Sauerstoffgehalt und mehr analysiert werden, z. B. Äthylenoxydaddukte. Da man, wie erwähnt, vor der Analyse den Sauerstoffgehalt oft nicht kennt, verwenden wir die doppelte Umsetzung in allen Fällen. Wird ein besonders hoher Sauerstoffgehalt vermutet, dann wird die Analysensubstanz im Schiffchen in Phenanthren eingebettet.

Der *Vorgang* bei der Sauerstoffbestimmung ist kurz folgender:

Nach Einbringen des Schiffchens und 5 Min. Rückwärtsspülung wird der elektrische Laufbrenner, der die Verkrackung der Analysensubstanz besorgt, in Gang gebracht. Nach 15 Min. Laufzeit hat der Brenner die Rußschicht des ersten Ofens erreicht. Die Reaktionsgase sind inzwischen durch den ersten und anschließend durch den zweiten Ofen geströmt und haben ihren Gehalt an absorbierbaren Bestandteilen (Halogene, Schwefel) an Natronasbest-Natronkalk abgegeben. Das Kohlenoxyd wird über Kupferoxyd, das sich in einem auf 300° C erhitzten Rohre befindet (s. Abb. 1), zu Kohlendioxyd, der Wasserstoff zu Wasser oxydiert und diese Reaktionsprodukte werden in gewogenen Absorptionsröhrchen durch Phosphorpentoxyd-Bimsstein-Natronasbest festgehalten.

Tabelle 1.

Substanz	% O		% H	
	gef.	ber.	gef.	ber.
Acetanilid	12,00 11,85	11,85	6,77 6,75	6,71
Benzoesäure	26,17	26,22	5,02	4,96
Ammoniak-Addukt an 2,6-Dinitro-3-oxy-1-methyl-4-isopropyl-benzol	31,08	31,10	5,98	5,84
Natrium-dodecyl-sulfat	22,40	22,25	8,74	8,69
7,8-Dioxy-cumarin	35,81	35,93	3,56	3,77
Melamin-bromthymol-sulfonat · 2 H_2O	20,05	20,37		
Äthylenoxydanlagerungsprodukt	34,18 34,42	—		
Polyglycerin	51,75	—		
Malonsäure	61,57	61,50		
Phenacetin	17,89 17,74	17,83		
Benzanilid	8,16 7,89	8,19		

Es wird noch 10 Min. lang nachgespült. Dann können die Absorptionsröhrchen gewogen und die Analyse ausgewertet werden.

Wie man sieht, haben wir uns also für eine Reaktionstemperatur von 1000° C und für die *gravimetrische* Methode entschieden. Außerdem haben wir festgestellt, daß man durch Wägung des P_2O_5-Röhrchens (wie bei der C—H-Bestimmung) in vielen Fällen auch den *Wasserstoff* der Analysensubstanz gleichzeitig mit dem Sauerstoffgehalt bestimmen kann. Leider ist diese Methode nur für Stoffe mit niedrigem Wasserstoffgehalt verwendbar. Sie versagt z. B. bei Kohlenwasserstoffen.

In Tabelle 1 sind einige Analysenresultate mitgeteilt.

Zusammenfassung.

Infolge von Schwierigkeiten bei der Durchführung der direkten Bestimmung von Sauerstoff in organischen Substanzen nach *Schütze* und *Unterzaucher* wurden einige Abänderungen an der literaturbekannten Apparatur vorgenommen. Insbesondere werden Porzellan- statt Quarzrohre, ein neuartiger Temperaturregler für die elektrischen Öfen und eine besondere Art der Vorreinigung des als Trägergas verwendeten Stickstoffes verwendet. Die abgeänderte Apparatur hat sich in einem Industrielaboratorium bei der Untersuchung aller Arten von organischen Verbindungen seit über zwei Jahren bewährt. Es wird ferner gezeigt, daß sich das beschriebene Verfahren zur gleichzeitigen Bestimmung von Sauerstoff und Wasserstoff in einigen organischen Substanzen eignet.

Summary.

Because of the difficulties involved in the direct determination of oxygen in organic materials by the *Schütze* and *Unterzaucher* method, the apparatus as described in the literature was modified in several respects. In particular, porcelain tubes were used in place of quartz, the electric furnaces were provided with a new type of temperature regulator, and the nitrogen employed as carrier gas was subjected to a special prepurification. The modified apparatus has been tested and found satisfactory in an industrial laboratory where it has been used for more than two years in the anlysis of all sorts of organic compounds. It has also been found that the procedure is suitable for the simultaneous determination of oxygen and hydrogen in some organic substances.

Résumé.

A la suite de difficultés rencontrées lors du dosage direct de l'oxygène dans les matières organiques d'après la méthode de *Schütze* et *Unterzaucher*, quelques modifications on été apportées à l'appareil décrit dans la littérature. En particulier, les tubes de quartz ont été remplacés par des tubes de porcelaine, un régulateur de température de modèle nouveau a été adjoint aux fours électriques et l'azote utilisé comme gaz transporteur a été purifié de façon spéciale. L'appareil modifié a été éprouvé avec succès pendant deux années dans un laboratoire industriel par l'analyse de combinaisons organiques

de toutes sortes. Il apparaît en outre que la technique décrite est appropriée à la détermination simultanée de l'oxygène et de l'hydrogène dans quelques substances organiques.

Literatur.

[1] *M. Schütze*, Z. analyt. Chem. **118**, 245 (1939).
[2] *W. Hempel*, Gasanalytische Methoden. 1913. S. 364.
[3] Literaturzusammenstellungen finden sich unter anderem bei *W. Kirsten*, Analyt. Chemistry **25**, 74 (1953), und *R. D. Hinkel*, Analyt. Chemistry **25**, 470 (1953).
[4] *W. Zimmermann*, Z. analyt. Chem. **118**, 258 (1939).
[5] *J. Unterzaucher*, Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 391 (1940); Analyst **77**, 584 (1952).
[6] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 320.

Aus dem Institut für Verfahrenstechnik und Technologie der Brennstoffe der Technischen Hochschule Wien.

Mikrogasanalyse für Serienuntersuchungen.

Von

W. Löffler und **E. Nausch.**

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 16. Mai 1955.)

Im Rahmen von Untersuchungen über den Gasgehalt von Gläsern von *Kurt Peters* und *W. Löffler** wurde eine Apparatur zur Analyse sehr kleiner Gasproben gebaut und erprobt, die ganz allgemein für Mikrogasanalysen verwendbar ist. Die Methode der genannten Autoren gestattet die gleichzeitige Ausführung von fünf vollständigen Gasanalysen, wobei für jede Analyse nur 0,3 bis 0,5 ml Gas benötigt werden. Die Analysenapparatur besteht aus einer Mikrobürette mit Wassermantel, einigen Mikro-Absorptionspipetten und den verschiedenen Absorptionsfüllungen in Form von Perlen, die mit den Mikropipetten und dem Kapillarende der Bürette in einer gemeinsamen, drehbar gelagerten und mit Quecksilber gefüllten Kreisringschale ruhen.

Als Bürette (Abb. 1, *A*) dient eine genau horizontal liegende kalibrierte Glaskapillare, die im Bereich der Teilung mit einem Wassermantel umgeben ist. Dieser kann zur Ausschaltung von Temperaturfehlern an einen Thermostaten angeschlossen werden. Die Kapillare ist an einem Ende zur Aufnahme des Quecksilbers glockenförmig erweitert und mit einer Gummimembran *D* abgeschlossen. Diese kann mit Hilfe der Handschraube *B* bewegt werden und gestattet so das Verschieben der zwischen zwei Quecksilberfäden eingeschlossenen Gasprobe in der geeichten Meßkapillare. Das andere Ende dieser Kapillare führt zu den Gaspipetten. Es ist dazu dreimal rechtwinkelig abgebogen. Die Kapillarspitze ist zur vollständigen Entnahme der Gase aus den Pipetten, deren Innenwölbung entsprechend, rund geschliffen. Die Bürette ist fix montiert.

Um die verschiedenen Mikrogaspipetten *E* (10 bis 20 Stück mit je 1 ml Inhalt) über das feststehende Kapillarende bringen zu können, sind

* Bisher unveröffentlichte Arbeiten.

diese mit angeschmolzenen Glasstäben in einem drehbaren Holzteller *F* vertikal beweglich so eingesetzt, daß sie in die mit Quecksilber gefüllte Kreisringwanne *H* eintauchen, in der auch die Mikrobürette endet. Bei Anheben des Glasstabes bis zum Anschlag *J* wird die Pipette so hoch gehoben, daß sie durch Drehen des Holztellers über das Kapillarende bewegt werden kann, während die untere Öffnung der Glocke in das Quecksilber eingetaucht bleibt.

Die Absorption der verschiedenen Gase wird durch kleine Perlen *G* erreicht, die auf Platindrähten sitzen und durch Glasstäbe mit dem

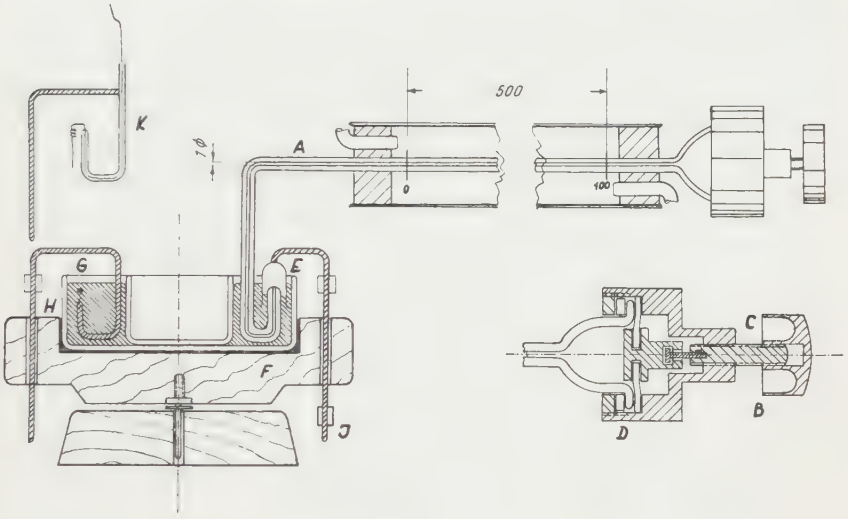


Abb. 1.

Rand des Holztellers vertikal und horizontal beweglich verbunden sind. Für die Verbrennung dient eine Platinspirale *K*, die an einem ähnlichen Glasstab befestigt und mit Stromzuführungen versehen ist.

Der drehbare Holzteller gestattet es, jede Pipette auf Wunsch mit der Analysenbürette bzw. einer Kapillare in Verbindung zu bringen, durch die beliebige Gasproben eingeführt werden können und die ähnlich geformt ist wie das in das Quecksilber eintauchenden Ende der Mikrobürette. Eine Anzahl der Pipetten dient zum Aufbewahren von verschiedenen Gasproben, andere zur Durchführung der Analysen. Für jede analytische Bestimmung ist eine gesonderte Pipette vorgesehen.

Arbeitsweise.

Für die Bestimmung wird das zu untersuchende Gas aus der Aufbewahrungspipette in gewünschter Menge in die horizontale Mikro-

bürette A gesaugt, gemessen und dann in die erste mit Quecksilber gefüllte Analysenpipette gedrückt. In diese wird ein Glasstab G mit einer gesinterten Phosphorpentoxydperle eingebracht, die das Wasser absorbiert. Nach etwa 3 Minuten wird die Perle aus der Pipette durch Abwärtsbewegen und Schwenken des Glasstabes G herausgenommen. Das Gas wird in die Bürette zurückgesaugt und gemessen. Die Volumenabnahme entspricht dem Wassergehalt. Genau so wird bei den nachfolgenden Bestimmungen verfahren, wobei für Kohlendioxyd eine geschmolzene, feuchte Ätzkaliperle (Absorptionsdauer 5 Minuten), für ungesättigte Kohlenwasserstoffe eine poröse Tonkugel, die mit konzentrierter Schwefelsäure getränkt ist (Dauer 10 bis 15 Minuten), und für Sauerstoff eine Phosphorperle (Dauer 20 Minuten) verwendet wird. Für jede Bestimmung ist eine gesonderte Pipette vorgesehen, um Fehler, die durch anhaftendes Reagens auftreten können, zu vermeiden.

Zur Bestimmung von Kohlenoxyd, Wasserstoff und Methan durch Verbrennung kommt die Gasprobe in eine Pipette, die etwa das doppelte Fassungsvermögen der übrigen Pipetten besitzt, weil die Gasprobe zu dieser Bestimmung mit einer gemessenen Menge Luft gemischt wird, deren Volumen oft ein Vielfaches des Gasvolumens betragen muß. Eine Verbrennung mit reinem Sauerstoff ist wegen der Explosionsgefahr nicht immer durchführbar. Die Verbrennung wird durch eine kleine Platinspirale K bewirkt. Diese wird 2 bis 3 Minuten auf helle Rotglut gebracht. Danach werden die Kontraktion, der Kohlendioxydgehalt und der Sauerstoffgehalt bestimmt, woraus sich Kohlenoxyd, Wasserstoff, Methan und Stickstoff berechnen lassen.

Der Zeitaufwand für eine mit einer Gasprobe von 0,3 bis 0,5 ml durchgeführte Vollanalyse (CO_2, C_nH_{2n}, CO, H_2, CH_4, C-Zahl und Rest-N_2) beträgt etwa 45 Minuten. Es können, wie bereits erwähnt, bis zu fünf Analysen gleichzeitig durchgeführt werden.

Die Genauigkeit ist etwa die gleiche wie bei der technischen Gasanalyse im Orsat-Apparat.

Zusammenfassung.

Durch konsequente Anwendung mikrochemischer Arbeitsmethoden bei der technische Gasanalyse gelang es, auf Grund selektiver Absorption der zu bestimmenden Gase an festen Reagenzien eine Mikromethode auszuarbeiten, die bei wesentlich geringerem Zeit- und Materialbedarf den bisher üblichen Makromethoden in bezug auf die Genauigkeit der Ergebnisse in keiner Weise nachsteht. Durch eine karussellartige Anordnung der Mikro-Gaspipetten konnte die Ausführung der Analyse im Vergleich zu anderen Mikromethoden vereinfacht und überdies die gleichzeitige Vornahme mehrerer Bestimmungen ermöglicht werden.

Summary.

Consistent use of microchemical methods in technical gas analysis made it possible to work out a micro method based on the selective adsorption of the gas particular on solid reagents. This method is superior to the former macro methods with respect to economy of time and material and is not less accurate. A carousel-like arrangement of the micro gas pipettes simplified the procedure as compared with other micro methods and in addition it enables the operator to carry out several determinations simultaneously.

Résumé.

L'emploi systématique de méthodes microchimiques de travail pour l'analyse technique des gaz a permis de mettre au point une microméthode sur la base de l'adsorption sélective sur des réactifs solides des gaz à déterminer; elle présente l'avantage d'être beaucoup plus rapide et de ne pas nécessiter un matériel aussi important que les macrométhodes habituelles tout en fournissant des résultats aussi précis. Le montage des micropipettes à gaz sur un dispositif tournant permet de simplifier l'exécution de l'analyse, comparativement à certaines autres microméthodes et, en outre, de commencer simultanément plusieurs déterminations.

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der Universität Graz.

Metallfällungen mit Aminophenylarsinsäuren.

Von

R. Pietsch.

(Eingelangt am 25. Mai 1955.)

Seit *Rice*, *Fogg* und *James*[1] die ersten Untersuchungen über die Fällbarkeit von Zirkon und Thorium mit Phenylarsinsäure veröffentlicht haben und später mit diesem Reagens auch Tantal und Niob[2], Zinn[3] und Wismut[4] quantitativ bearbeitet wurden, liegen zahlreiche Versuche vor, die Vorteile der Metallfällung mit durch Arsensäure substituierten organischen Verbindungen analytisch auszunützen. Die Arsensäure wurde an verschiedene aliphatische und aromatische Körper gebunden und diese auf ihre Brauchbarkeit hin untersucht.

So wurde von *Portnov*[5] unter anderen auch die p-Acetylaminophenylarsinsäure auf ihre Metallfällungen hin bearbeitet und auch eine quantitative Kobaltbestimmung[6] auf dieser Basis ausgearbeitet. Die p-Oxyphenylarsinsäure haben *Portnov*[6] zur Fällung von Blei, *Claassen* zur Bestimmung von Zirkon[7], ferner *Simpson* und *Chandlee* für Titan[8] herangezogen. Auch mit der p-Methylphenylarsinsäure wurde von *Chandelle*[9] die Zirkonbestimmung bearbeitet, wozu auch aliphatische Arsensäurederivate[10] herangezogen wurden. p-Aminophenylarsinsäure hat *Chandelle*[11] ebenfalls für die Zirkonfällung verwendet, während *Miller*[12] diese Säure, wenn auch nicht zur Fällung, so doch zum Nachweis von Cer verwendete. Weiters sind schon seit einiger Zeit weitere Untersuchungen über die analytische Verwendung dieser Säure im Gange und Möglichkeiten zur Bestimmung von Kupfer[13], Kobalt[14] und Wismut[15] aufgezeigt worden.

Zur Ermittlung weiterer analytischer Möglichkeiten und zur Untersuchung des Einflusses der Stellung von Substituenten, im gegenwärtigen Falle der Aminogruppe, sowie zur Erweiterung der Kenntnisse über die Reaktionen der Arsinsäuren wird in dieser Arbeit als erster Teil einer systematischen Untersuchungsreihe über die Reaktionen der drei Isomeren Aminophenylarsinsäuren berichtet. Von allen zur Verfügung stehenden

Metallionen werden im folgenden die Reaktionen mit diesen drei Säuren beschrieben.

Die Herstellung der o-Aminophenylarsinsäure erfolgte durch Reduktion nach *Kalb*[16] aus der nach *Bart*[17] erhaltenen o-Nitrophenylarsinsäure. Ebenso wurde zur Darstellung der p-Aminophenylarsinsäure verfahren.

Bei der Herstellung des m-Isomeren wurde von der nach *Bart*[18] hergestellten Phenylarsinsäure ausgegangen, die nach *Michaelis*[19] nitriert wurde. Zur Reduktion diente das Verfahren von *Jacobs, Heidelberger* und *Rolf*[20].

o-Aminophenylarsinsäure (o-Arsanilsäure).

Die Niederschläge, die in der Kälte bzw. beim Erhitzen entstehen, sind durchwegs flockig und zeigen die den jeweiligen Ionen entsprechenden Farben mit geringen Variationen. Eine Ausnahme bildet nur das Calcium, dessen Niederschlag pulverig bis kristallin ist.

Die nachstehende Tabelle 1 zeigt die Zusammenstellung der Reaktionen:

Tabelle 1.

Ionen	Farbe	p_H des Fällungsbeginnes	Bemerkung
Alkalien			keine Reaktion
Be^{+2}	weiß	4	nicht quantitativ
Mg^{+2}	weiß	7,5	nicht quantitativ
Ca^{+2}	weiß	4	nicht quantitativ
Sr^{+2}			keine Reaktion
Ba^{+2}			keine Reaktion
Al^{+3}	weiß	4	quantitativ
Y^{+3}	weiß	3	quantitativ
La^{+3}	weiß	3,5	quantitativ
Ce^{+3}	weiß	3,5	quantitativ
Ti^{+4}	weiß	1	quantitativ
Zr^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Th^{+4}	weiß	1	quantitativ
V^{+5}			keine Reaktion
Cr^{+3}	blaugrün	3	quantitativ
Cr^{+6}			keine Reaktion
Mo^{+6}			keine Reaktion
W^{+6}			keine Reaktion
U^{+6}	gelblich	1	quantitativ
Mn^{+2}	weiß	3	quantitativ
Fe^{+2}	blaugrün	< 1	nicht quantitativ
Fe^{+3}	braun	1	quantitativ
Co^{+2}	violett	4	quantitativ nach Kochen
Ni^{+2}	grünlich	5	nicht quantitativ
Ru^{+3}			Farbreaktion, alkalisch rotviolett

(Fortsetzung der Tabelle 1.)

Ionen	Farbe	p_H des Fällungsbeginnes	Bemerkung
Rh^{+3}		Farbreaktion, alkalisch grünbraun	
Pd^{+2}	braun	4	nicht quantitativ, verdünnt, nur braune Farbe
Ir^{+4}		Farbreaktion, alkalisch rötlichlila	
Pt^{+4}		Farbreaktion, alkalisch und sauer rot, dunkel	
Cu^{+2}	grün	1	quantitativ
Ag^{+1}	weiß	5	quantitativ
Au^{+3}	braun	1	nicht quantitativ, oft nur Farbe
Zn^{+2}	weiß	4	quantitativ
Cd^{+2}	weiß	3	quantitativ
Hg^{+1}	weiß	1	quantitativ
Hg^{+2}	weiß	6	quantitativ
In^{+3}	weiß	2	quantitativ
Tl^{+1}		keine Reaktion	
Sn^{+2}	weiß	< 1	quantitativ
Sn^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Pb^{+2}	weiß	3	nicht quantitativ
$As^{+3}/^{+5}$		keine Reaktion	
Sb^{5}	weiß	1	nicht quantitativ, nur in konz. Lösungen
Bi^{+3}	weiß	1	quantitativ
$Se^{+4}/^{+6}$		keine Reaktion	
$Te^{+4}/^{+6}$		keine Reaktion	

Alle Niederschläge mit Ausnahme von Hg^{+1} und Ti^{+4} sind gut filtrierbar, lösen sich mit Ausnahme von Sn^{+2}, Sn^{+4}, Zr^{+4} in verd. Säuren und werden von Alkalien zu den entsprechenden Hydroxyden umgewandelt. Sb^{+3} fällt bereits vor der Arsanilatfällung als basisches Salz.

m-Aminophenylarsinsäure (m-Arsanilsäure).

Auch bei dem m-Isomeren sind alle Niederschläge mit Ausnahme des Calciums flockig und bilden sich schon in der Kälte oder beim Erwärmen. Die Farben unterscheiden sich von den mit o-Arsanilsäure auftretenden nicht wesentlich. Die nachstehende Tabelle 2 gibt Einzelheiten:

Tabelle 2.

Ionen	Farbe	Fällungs-p_H	Bemerkung
Alkalien		keine Reaktion	
Be^{+2}	weiß	5	nicht quantitativ
Mg^{+2}	weiß	8	nicht quantitativ
Ca^{+2}	weiß	8	nicht quantitativ, nur in ganz konz. Lösungen
Sr^{+2}		keine Reaktion	
Ba^{+2}		keine Reaktion	

(Fortsetzung der Tabelle 2.)

Ionen	Farbe	Fällungs-p_H	Bemerkung
Al^{+3}	weiß	4	quantitativ
Y^{+3}	weiß	3	quantitativ
La^{+3}	weiß	4	quantitativ
Ce^{+3}	weiß	3	quantitativ
Ti^{+4}	weiß	1	quantitativ
Zr^{+4}	weiß	1	quantitativ
Th^{+4}	weiß	1,5	quantitativ
V^{+5}		keine Reaktion	
Cr^{+3}	grünblau	4	quantitativ
Cr^{+6}		keine Reaktion	
Mo^{+6}		keine Reaktion	
W^{+6}		keine Reaktion	
U^{+6}	gelblich	2	quantitativ
Mn^{+2}	weiß	4,5	quantitativ
Fe^{+2}	blaugrün	2	nicht quantitativ
Fe^{+3}	braun	2	quantitativ
Co^{+2}	lila	4	quantitativ beim Kochen
Ni^{+2}	weißgrün	4,5	nicht quantitativ
Ru^{+3}		Farbreaktion, alkalisch rosa	
Rh^{+3}		Farbreaktion, alkalisch braungrün	
Pd^{+2}	braun	4	nicht quantitativ, nur in konz. Lösung ein Nd., sonst Farbe
Ir^{+4}		Farbreaktion, alkalisch lila bis grünlich	
Pt^{+4}		Farbreaktion, alkalisch und sauer dunkelbraun bis rot	
Cu^{+2}	grün	3	quantitativ
Ag^{+1}	weiß	4	quantitativ
Au^{+3}	braun	1	nicht quantitativ, sauer und alkalisch rot gelöst
Zn^{+2}	weiß	4	quantitativ
Cd^{+2}	weiß	4	quantitativ
Hg^{+1}	weiß	1	quantitativ
Hg^{+2}	weiß	4,5	quantitativ
In^{+3}	weiß	4	quantitativ
Tl^{+1}		keine Reaktion	
Sn^{+2}	weiß	1	quantitativ
Sn^{+4}	weiß	1	quantitativ
Pb^{+2}	weiß	4,5	nicht quantitativ
$As^{+3}/^{+5}$		keine Reaktion	
Sb^{+5}	weiß	1	nicht quantitativ, nur in konz. Lösungen
Bi^{+3}	weiß	< 1	quantitativ
$Se^{+4}/^{+6}$		keine Reaktion	
$Te^{+4}/^{+6}$		keine Reaktion	

Alle angeführten Niederschläge sind ebenfalls gut filtrierbar mit Ausnahme von Fe^{+3}, Hg^{+1} und Sn^{+2}, sind in verd. Säuren leicht löslich und zeigen im alkalischen Gebiet das Verhalten der jeweiligen Hydroxyde. Sb^{+3} wird auch hier schon vorher als basisches Salz gefällt.

p-Aminophenylarsinsäure (p-Arsanilsäure).

Auch hier wieder sind alle Niederschläge mit Ausnahme von Calcium flockig und entstehen meist schon in der Kälte, seltener erst beim Erwärmen, werden jedoch beim Kochen regelmäßig stärker. Nähere Angaben bringt die anschließende Tabelle 3.

Tabelle 3.

Ionen	Farbe	Fällungs-p_H	Bemerkung
Alkalien			keine Reaktion
Be^{+2}	weiß	5	nicht quantitativ
Mg^{+2}	weiß	9,5	nicht quantitativ
Ca^{+2}	weiß	6,5	nicht quantitativ
Sr^{+2}			keine Reaktion
Ba^{+2}			keine Reaktion
Al^{+3}	weiß	4	quantitativ
Y^{+3}	weiß	3	quantitativ
La^{+3}	weiß	3	quantitativ
Ce^{+3}	weiß	2	quantitativ
Ti^{+4}	weiß	1	quantitativ
Zr^{+4}	weiß	1	quantitativ
Th^{+4}	weiß	1	quantitativ
V^{+5}			keine Reaktion
Cr^{+3}	grünblau	4	quantitativ
Cr^{+6}			keine Reaktion
Mo^{+6}			keine Reaktion
W^{+6}			keine Reaktion
U^{+6}	gelb	1,5	quantitativ
Mn^{+2}	weiß	4,5	quantitativ
Fe^{+2}	grünblau	1	nicht quantitativ
Fe^{+3}	braun	1,5	quantitativ
Co^{+2}	lila	4,5	quantitativ nach Kochen
Ni^{+2}	grün	6,5	nicht quantitativ
Ru^{+3}			Farbreaktion, alkalisch rotviolett
Rh^{+3}			Farbreaktion, alkalisch grünbraun
Pd^{+2}	braun	1	nicht quantitativ, verdünnt, nur Farbe
Ir^{+4}			Farbreaktion, alkalisch hellila bis grün
Pt^{+4}			Farbreaktion, sauer und alkalisch dunkelbraun bis rot
Cu^{+2}	grün	4	quantitativ
Ag^{+1}	weiß	5	quantitativ
Au^{+3}	braun	1	nicht quantitativ, löst sich in Säuren und Alkalien rotbraun
Zn^{+2}	weiß	4	quantitativ
Cd^{+2}	weiß	3,5	quantitativ
Hg^{+1}	weiß, wird dunkel	1	quantitativ
Hg^{+2}	weiß	3	quantitativ
In^{+3}	weiß	1,5	quantitativ
Tl^{+1}			keine Reaktion
Sn^{+2}	weiß	2,5	quantitativ

(Fortsetzung der Tabelle 3.)

Ionen	Farbe	Fällungs-p_H	Bemerkung
Sn^{+4}	weiß	1,5	quantitativ
Pb^{+2}	weiß	4,5	nicht quantitativ
$As^{+3}/^{+5}$			keine Reaktion
Sb^{+5}	weiß	1	nicht quantitativ, nur in konz. Lösungen
Bi^{+3}	weiß	1,5	quantitativ
$Se^{+4}/^{+6}$			keine Reaktion
$Te^{+4}/^{+6}$			keine Reaktion

Alle Niederschläge sind in verd. Säuren leicht löslich. Sie sind gut filtrierbar und zeigen mit Alkalien nach eventueller Umwandlung das Verhalten der jeweiligen Hydroxyde. Sb^{+3} fällt auch hier schon in stark saurem Medium als basisches Salz aus.

Bemerkt soll noch werden, daß sich bei größeren Änderungen in der Reagenskonzentration die Werte des jeweiligen Fällungsbeginns etwas verschieben.

Aus der nachstehenden Tabelle 4 sind die Unterschiede der drei Isomeren hinsichtlich des p_H-Wertes der Fällung der einzelnen Metalle

Tabelle 4.

p_H des Fällungsbeginnes	o-Arsanilsäure	m-Arsanilsäure	p-Arsanilsäure
	Zr^{+4}, Sn^{+2}, Sn^{+4}, (Fe^{+2})	Bi^{+3}	
1	Ti^{+4}, Th^{+4}, U^{+6}, Fe^{+3}, Cu^{+2} Hg^{+1}, Bi^{+3}, $(Sb^{+5}$, $Au^{+3})$	Ti^{+4}, Zr^{+4}, Hg^{+1}, Sn^{+2}, Sn^{+4}, $(Au^{+3}$, $Sb^{+5})$	Ti^{+4}, Zr^{+4}, Th^{+4}, Hg^{+1} $(Au^{+3}$, Fe^{+2}, Pd^{+2}, $Sb^{+5})$
		Th^{+4}	In^{+3}, U^{+6}, Fe^{+3}, Sn^{+4}, Bi^{+3}
2	In^{+3}	U^{+6}, Fe^{+3}, (Fe^{+2})	Ce^{+3}
			Sn^{+2}
3	Y^{+3}, Cr^{+3}, Mn^{+2}, Cd^{+2} (Pb^{+2})	Y^{+3}, Ce^{+3}, Cu^{+2}	Y^{+3}, La^{+3}, Hg^{+2}
	La^{+3}, Ce^{+3}		Cd^{+2}
4	Al^{+3}, Co^{+2}, Zn^{+2} $(Be^{+2}$, Pd^{+2}, $Ca^{+2})$	Al^{+3}, Cr^{+3}, Co^{+2}, Ag^{+1} Zn^{+2}, Cd^{+2}, In^{+3}, La^{+3} (Pd^{+2})	Al^{+3}, Cr^{+3}, Cu^{+2}, Zn^{+2}
		Mn^{+2}, Hg^{+2}, $(Ni^{+2}$, $Pb^{+2})$	Mn^{+2}, Co^{+2}, (Pb^{+2})
5	Ag^{+1}, (Ni^{+2})	(Be^{+2})	Ag^{+1}, (Be^{+2})
6	Hg^{+2}		
			$(Ca^{+2}$, $Ni^{+2})$
7			
	(Mg^{+2})		
8		$(Mg^{+2}$, $Ca^{+2})$	
9			
			(Mg^{+2})

ersichtlich. Aus den Unterschieden der Fällungs-p_H-Werte lassen sich Trennungsmöglichkeiten ohneweiters erkennen, wenn man gleichzeitig die in Klammer gesetzten, nicht quantitativ fallenden Elemente beachtet. Diesbezüglich muß auch noch hervorgehoben werden, daß die Fällungen der Metalle als Arsanilate mit wenigen Ausnahmen, wie etwa Fe^{+3} oder Mg^{+2} mit den Arsanilsäuren außerordentlich scharf erfolgen und zwischen Fällungsbeginn und Fällungsende nur Bruchteile von p_H-Werten liegen.

Die Stellung der Aminogruppe in den drei Isomeren ist beim Großteil der Elemente, wie Al^{+3}, Y^{+3}, Ti^{+4}, Zr^{+4}, Zn^{+2}, Fe^{+3}, Sb^{+5} usw., ohne Einfluß auf den Fällungsbeginn. Bei einigen anderen Elementen treten hingegen mit der Änderung der Stellung der Aminogruppe auch Veränderungen bei der Niederschlagsbildung auf. So ist bei Mg^{+2}, Sn^{+2}, Cu^{+2} und auch bei Sn^{+4} eine stetige Verschiebung des Fällungsbeginnes nach stärker alkalischen Bereichen zu erkennen, wenn die Aminogruppe aus der o-Stellung in die p-Stellung geht. Analog ist bei gleicher Verschiebung der Aminogruppe bei Hg und Ce eine Verschiebung zu stärker sauern Werten zu sehen. Bemerkenswert ist auch die stark unterschiedliche Lage des Fällungsbeginnes von Ca^{+2}, In^{+3} und Fe^{+2}.

Zusammenfassung.

Die Fällung von Metallionen mit den isomeren o-, m- und p-Aminophenylarsinsäuren werden beschrieben und auftretende Farbreaktionen angegeben. Unterschiede in der Niederschlagsbildung werden aufgezeigt, die sich zu Trennungen auswerten lassen. Die Beeinflussung des Ausfallens durch die Stellung der Aminogruppe wird diskutiert.

Summary.

A description is given of the precipitation of metal ions with *o*-, *m*-, and *p*-aminophenylarsonic acids and the resulting color reactions are given. Separations may be based on the difference in the precipitation reactions. The influence of the position of the amino group is discussed.

Résumé.

On décrit la précipitation d'ions métalliques par les trois isomères o., m. et p. de l'acide aminophénylarsonique et l'on donne des indications sur les réactions colorées qui les accompagnent. On met en évidence les différences concernant la formation des précipités: elles sont susceptibles d'être employées pour des séparations. On discute l'influence de la position du groupe aminé sur la précipitation.

Literatur.

[1] *A. Rice, H. Fogg* und *C. James*, J. Amer. Chem. Soc. **48**, 895 (1926).

[2] *J. P. Alimarin* und *B. I. Fried*, Mikrochem. **23**, 17 (1937); zitiert nach Chem. Zbl. **1938 I**, 2922.

[3] *J. S. Knapper, K. Craig* und *G. C. Chandlee*, J. Amer. Chem. Soc. **55**, 3945 (1933).

[4] *A. K. Majumdar*, J. Ind. Chem. Soc. **21**, 119 (1944).
[5] *A. I. Portnov*, J. Gen. Chem. **18**, 494 (1948); zitiert nach Chem. Abstr. **43**, 57 (1949).
[6] *A. I. Portnov*, J. Gen. Chem. **18**, 601 (1948); zitiert nach Chem. Abstr. **43**, 57 (1949).
[7] *A. Claassen*, Rec. trav. chim. Pays-Bas **61**, 299 (1942).
[8] *C. T. Simpson* und *G. C. Chandlee*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **10**, 642 (1938).
[9] *R. Chandelle*, Bull. soc. chim. Belgique **46**, 283 (1937); zitiert nach Chem. Zbl. **1938** I, 666.
[10] *A. Chandlee*, J. Amer. Chem. Soc. **57**, 8 (1935).
[11] *R. Chandelle*, Bull. soc. chim. Belgique **48**, 12 (1939); zitiert nach Chem. Zbl. **1939** II, 2124.
[12] *J. F. Miller*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **9**, 181 (1937); zitiert nach Chem. Zbl. **1938** I, 380.
[13] *A. Musil* und *R. Pietsch*, Z. analyt. Chem. **140**, 421 (1953).
[14] *A. Musil* und *R. Pietsch*, Z. analyt. Chem. **142**, 81 (1954).
[15] *A. Musil* und *R. Pietsch*, Z. analyt. Chem. **144**, 347 (1955).
[16] *L. Kalb*, Ann. Chem. **423**, 53 (1921).
[17] *H. Bart*, Ann. Chem. **429**, 92, 95 (1922).
[18] *H. Bart*, Ann. Chem. **429**, 75 (1922).
[19] *A. Michaelis*, Ann. Chem. **320**, 294 (1902).
[20] *A. Jacobs*, *M. Heidelberger* und *J. P. Rolf*, J. Amer. Chem. Soc. **40**, 1580 (1918).

Aus der Abteilung für Mikrochemie des Institutes für Organische und Pharmazeutische Chemie der Universität Graz.

Ein Hochvakuum-Mikroexsikkator und ein Heizblock zur Trocknung hygroskopischer Substanzen.

Von

E. Wiesenberger*.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 28. Mai 1955.)

A. Der Hochvakuum-Mikroexsikkator.

Zur Trocknung von Substanzen können in der mikroanalytischen Praxis vielfach die im chemischen Laboratorium gebräuchlichen Verfahren angewandt werden. In der quantitativen Mikroanalyse gibt es außerdem verschiedene Trocknungsvorrichtungen, die der Eigenart bestimmter Verfahren und den hierfür erforderlichen Gefäßformen zweckmäßig angepaßt sind. Die wesentlichen Einrichtungen dieser Art sind in den einschlägigen Werken[1] beschrieben. Alle diese Verfahren sind jedoch nur für Substanzen, die nach dem Trocknen gewichtskonstant bleiben, geeignet. Hygroskopische Substanzen können meist nur unter Anwendung von Hochvakuum getrocknet werden. Hierfür wurde von *Unterzaucher*[2] ein Hochvakuum-Mikroexsikkator nach dem Vorbild der Trockenpistole entwickelt.

Die in einem Schiffchen befindliche Substanz wird in einem verschließbaren Wägebehälter gewogen. Er wird in einer Gleitvorrichtung im Inneren des Exsikkatorrohres in seiner Lage festgehalten und kann nach beendeter Trocknung nach dem Öffnen der Pistole sofort geschlossen werden.

So gelingt es, die getrocknete Substanz ohne Berührung mit der Außenluft zur Wägung zu bringen.

Nach dem gleichen Prinzip können hygroskopische Substanzen auch nach *Röscheisen* und *Brettner*[3] getrocknet werden. Der von diesen Autoren beschriebene Mikroexsikkator weicht von der pistolenartigen Bauweise

* Adresse: Berlin-Siemensstadt, Im Heidewinkel 38.

ab und kann sowohl für die Trocknung im Hochvakuum, als auch im durchströmenden Gas verwendet werden. Der Exsikkatoreinsatz kann in dem Trockenblock nach *Pregl*[4] erhitzt werden. In der Praxis hat sich jedoch die Trockenpistole als zweckmäßigste Form erwiesen.

Für die serienmäßige Durchführung von Analysen hygroskopischer Substanzen war jedoch eine Abänderung des von *Unterzaucher* verwendeten Fixierungssystems des Wägebehälters förderlich. Die im Exsikkatoreinsatz eingebaute Gleitvorrichtung gab wiederholt zu Störungen Anlaß. Bei ungenauer Abstimmung des Gleitschienenschlitzes mit der Stärke und Breite der seitlichen Flügel des Wägebehälters kommt es oft zu Verklemmungen. Die Entnahme der Probe aus der Pistole gelingt

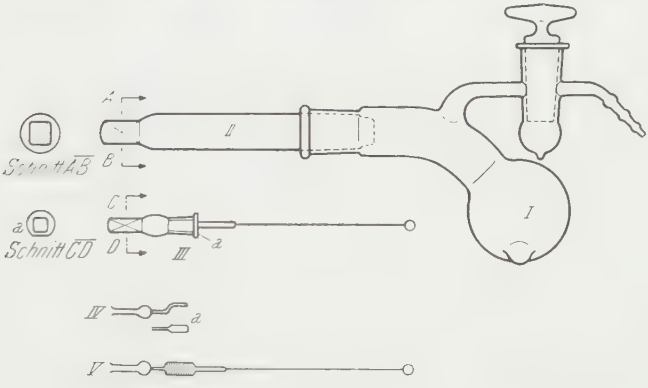


Abb. 1.

dann nur mit viel Mühe und Zeitaufwand. Häufig treten dabei auch Substanzverschüttungen ein, die außer einer neuen Einwaage die Wiederholung des ganzen Trockenvorganges erforderlich machen.

Zur Vermeidung dieser Störungen ist eine Vereinfachung des Exsikkatoreinsatzes, ähnlich der Vorrichtung von *Röscheisen* und *Brettner* notwendig. Es wurde daher versucht, einen pistolenförmigen Mikroexsikkator unter Vermeidung einer Gleitvorrichtung zu schaffen. In der Abb. 1 ist eine solche Anordnung dargestellt. Sie besteht aus dem zur Aufnahme des Trockenmittels vorgesehenen Behälter *I* und dem zum Erhitzen der Probe dienenden Exsikkatoreinsatz *II*. Beide Teile sind durch Schliff miteinander verbunden. Der Einsatz *II* ist an seinem geschlossenen Ende verjüngt und besitzt an dieser Stelle (Schnitt *A B*), wie auch der Wägebehälter (*III* und Schnitt *C D*) quadratischen Querschnitt. Die beiden kubischen Formen passen so ineinander, daß der Behälter zwar mit genügendem Spielraum eingeführt, aber nach keiner Seite hin verdreht werden kann. Das Öffnen, bzw. Schließen des Wäge-

behälters ist daher auf ähnliche Weise nach dem von *Röscheisen* und *Brettner* angewandten Prinzip möglich. Eine Lagefixierung in der Längsrichtung des Rohres ist entbehrlich, weil der Schliffstopfen das Wägeschweinchen bereits durch eine unter leichtem Druck ausgeführte Drehbewegung dicht abschließt und durch eine ohne Zugwirkung erfolgende entgegengesetzte Drehung wieder gelockert werden kann.

Diese Vereinfachung gab dem Wägebehälter eine für die Reinigung der Oberfläche günstige Form. Durch Abschleifen des Schliffhülsenrandes parallel zu einer Fläche des quaderförmigen Körpers (*III*, *a*) erhält das Wägeschweinchen bei der Ablage auch außerhalb des Exsikkatoreinsatzes genügende Standfestigkeit.

Normalerweise wird die zu trocknende Substanz in einem Schiffchen eingewogen. Vielfach ist aber die Einwaage in kurz- bzw. langstieligen Wägeröhrchen zweckmäßiger. Die kurzstieligen Röhrchen sind so gefertigt, daß sie an Stelle eines Schiffchens für den normalen Wägebehälter passen. Der gekröpfte Stiel (*IV*, *a*) reicht dabei in das Innere des hohlen Schliffstopfens. Für die langstielige Form sind eigene Wägeschweinchen vorgesehen. An deren Schliffstopfen sind die Röhrchen angeschmolzen (Abb. 1, *V*).

Die Ausführung der Trocknung.

Vor der erstmaligen Verwendung wird der Wägebehälter mit Chromschwefelsäure gereinigt und mit dest. Wasser gespült.

Nach Abwischen mit einem Leinen- und Rehlederläppchen wird er in einem reinen Reagensglas im Trockenschrank bei 80° bis 100° C getrocknet.

So vorbehandelt werden die Wägebehälter in den mit gleicher Nummer bezeichneten Pistolen aufbewahrt und sind jederzeit einsatzbereit.

Zur Einwaage entnimmt man das Wägeschweinchen der Trockenpistole, wischt es mit einem dünnen Rehlederläppchen leicht ab und stellt es in einem Reagensglas neben die Waage. Nach 5 Minuten wird es mit dem hierfür bestimmten Schiffchen (Wägeröhrchen) auf die Waagschale gebracht und austariert. Für jedes Wägeschweinchen ist ein eigenes Tarafläschchen vorgesehen. Gewichtskonstanz stellt sich nach etwa 10 Minuten ein und nun wird eingewogen. Zur schnelleren Durchführung ist es zweckmäßig und auch meist angängig, das Schiffchen während des Wägevorganges neben den Wägebehälter zu stellen. Erst nach der Ermittlung des Endgewichtes überführt man es in das Schweinchen und bringt es mit diesem in die Trockenpistole. Zur besseren Handhabung wird diese bei der Einführung und Entnahme des Wägebehälters mit dem Exsikkatorrohr an einem Stativ festgeklemmt. Der Wägebehälter, den man stets mit einem Rehlederläppchen am Griff des Schliffstopfenschaftes anfaßt, wird bis in die Rohrverengung vor-

geschoben und durch Drehung des Schliffstopfens geöffnet. Danach schließt man die Pistole und achtet darauf, daß die zusammengesetzten Schliffflächen glasklar erscheinen. Diese werden nach dem Öffnen der Pistole mit benzolgetränkter Watte entfettet und stets neu mit einem Hochvakuumfett (nicht gewöhnliches Hahnfett) geschmiert. So wird ein Festsetzen der Schliffflächen verhindert.

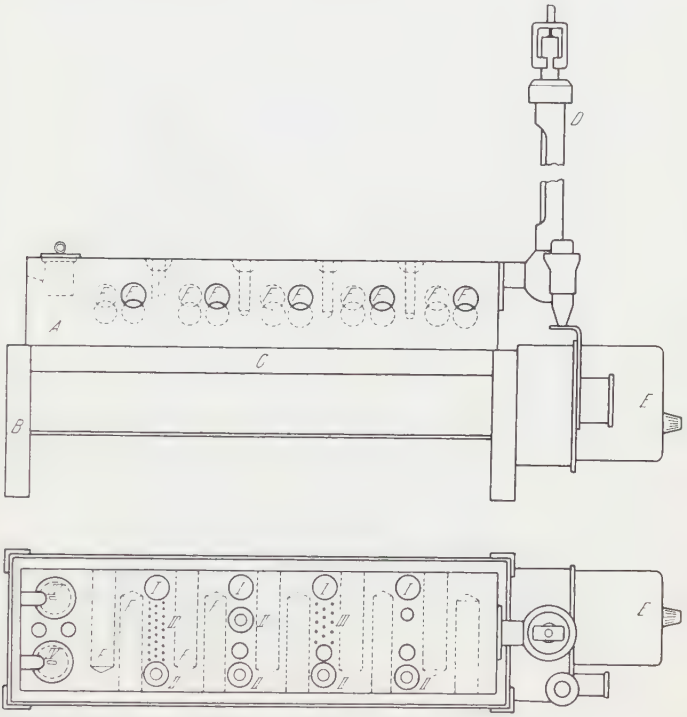


Abb. 2.

Zur Einleitung des Trocknungsvorganges wird die Pistole zunächst vorsichtig evakuiert, wobei die Hochvakuumpumpe erst nach dem Erreichen der jeweiligen Trocknungstemperatur angeschaltet wird. Die Erhitzungsdauer und Höhe der Temperatur richtet sich nach den Eigenschaften der Substanz.

Nach Beendigung der Trocknung leitet man in die auf Raumtemperatur abgekühlte Pistole Luft ein, die vorher mit konz. Schwefelsäure und mit dem gleichen, im Exsikkator angewandten Entwässerungsmittel getrocknet wurde. Vor Entnahme des Wägebehälters wird dieser gleich nach dem Öffnen der Trocknungspistole noch im Rohr durch Eindrehen

des Schliffstopfens geschlossen und in einem Reagensglas neben die Waage gestellt. Das Abwägen der getrockneten Substanz wird in der früher beschriebenen Weise durchgeführt.

B. Der Heizblock.

Zum Erhitzen der Trockenpistolen kann selbstverständlich jede hierfür geeignete Vorrichtung verwendet werden. Beim Arbeiten mit hygroskopischen Substanzen müssen zur möglichst mühelosen, serien-

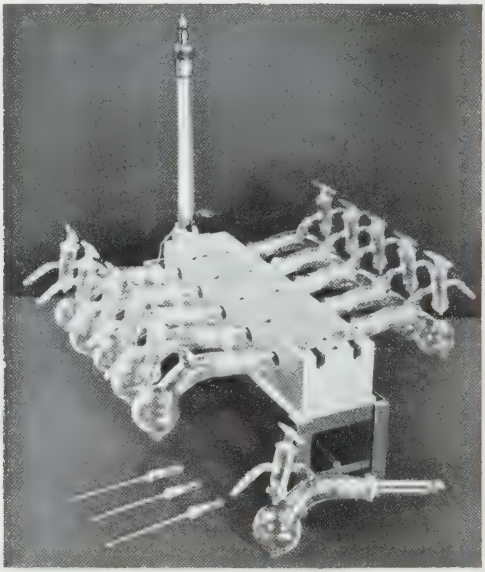


Abb. 3.

mäßigen Durchführung von Analysen gewisse Bedingungen erfüllt sein. Außer einer großen Anzahl einfacher Trockenpistolen muß die Möglichkeit bestehen, mehrere Substanzen zugleich und über eine längere Zeitspanne trocknen zu können. Gleichlaufend mit der Erprobung der Trockenpistolen wurde daher ein Heizblock entwickelt, der den gestellten Forderungen entsprach.

In der Abb. 2 ist der Grund- und Aufriß eines solchen Trockenofens* gezeichnet. Durch die kleinere Dimensionierung der Trockenpistole konnten die Abmessungen des Heizblockes entsprechend klein gewählt werden. Der aus Aluminiumguß hergestellte Block (*A*) ruht auf einem Eisengestell (*B*) und wird elektrisch geheizt. Der Heizkörper (*C*) ist

* Firma Paul Haack, Wien IX, Garnisongasse 3.

unterhalb der Grundfläche des Blockes angebracht und für Temperaturen bis 250° C berechnet. Ein Kontaktthermometer (*D*) regelt in Verbindung mit einem Schaltschütz (*E*) die Temperatur, die innerhalb eines Grades für jeden einstellbaren Wert des angegebenen Bereiches konstant bleibt. An den beiden Längsfronten des Blockes sind je fünf, mit geringer Neigung verlaufende Bohrungen (*F*) zur Aufnahme der Trockenpistolen vorgesehen. Es können daher zehn Substanzproben gleichzeitig getrocknet werden. Eine Gesamtansicht des mit Pistolen beschickten Ofens ist in der Abb. 3 wiedergegeben.

Der Heizblock bietet außerdem noch genügend Raum, um ihn durch Anbringen von weiteren Bohrungen und Vertiefungen zum Erhitzen, Trocknen und Abdampfen für mikroanalytische bzw. mikropräparative Arbeiten auszunützen. Beispielsweise dienen die Bohrungen *I* zur Aufnahme von Mikrobechern, die Vertiefungen *II* sind der Form der Mikrotiegel angepaßte Ausnehmungen, die Bohrkanäle *III* dienen zum Erhitzen von Lösungen und Reaktionsgemischen im ausgezogenen Röhrchen. Die mit Deckel verschließbaren Öffnungen (*IV*) sind für die Aufnahme von Mikrofilterbechern nach *Emich* und *Schwarz-Bergkampf*[5] vorgesehen.

Der Heizblock ist seit einigen Jahren in Betrieb und hat sich bestens bewährt. Durch die selbsttätige Temperaturregelung bedarf der Trocknungsvorgang keiner Aufsicht und der Heizblock kann Tag und Nacht voll ausgenützt werden.

Herrn Prof. Dr. *A. Zinke* danke ich für die mir erwiesene Unterstützung. Ebenso bin ich der Firma Haack, Wien, für die bereitwilligst übernommene Entwicklungsarbeit und Hilfe zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Zur Trocknung hygroskopischer Substanzen wird ein vereinfachter Hochvakuum-Mikroexsikkator beschrieben. Außerdem wird ein zum Erhitzen der Trockenpistolen dienender Heizblock angegeben. Bei selbsttätiger Temperaturregelung ermöglicht er die gleichzeitige Trocknung von zehn Substanzproben und kann zusätzlich für mikroanalytisches und präparatives Arbeiten ausgenützt werden.

Summary.

A simple apparatus is described for the drying of hygroscopic materials. It is a simplified high vacuum micro desiccator. A block for heating drying pistols is also described. Provided with automatic temperature regulation, it makes possible the simultaneous drying of ten samples of materials and in addition it can be employed for microanalytical work and in preparation procedures.

Résumé.

On décrit un microexsiccateur simplifié fonctionnant sous vide élevé pour la dessiccation de substances hygroscopiques. Un bloc chauffant permet en outre le chauffage du pistolet à dessiccation. La régulation automatique de la température permet de l'employer pour la dessiccation simultanée de dix prises d'essai, ainsi que pour des travaux de microanalyse et de chimie préparative.

Literatur.

[1] *F. Emich*, Lehrbuch der Mikrochemie, 2. Aufl. München: Bergmann. 1926. S. 81. *F. Emich*, Mikrochemisches Praktikum, 2. Aufl., München: Bergmann. 1931. S. 57 ff. *F. Hecht* und *J. Donau*, Anorganische Mikrogewichtsanalyse. Wien: J. Springer. 1940. S. 102 ff.

[2] *J. Unterzaucher*, Mikrochem. **18**, 315 (1935).

[3] *E. Röscheisen* und *P. Brettner*, Mikrochem. **22**, 254 (1937).

[4] *F. Pregl*, Quantitative organische Mikroanalyse, 6. Aufl., neu bearbeitet von Dr. *H. Roth*. Wien: Springer-Verlag. 1949. S. 122.

[5] *E. Schwarz-Bergkampf*, Z. analyt. Chem. **69**, 336 (1926).

Laboratorio da Produção Mineral, Ministerio da Agricultura, Rio de Janeiro, Brazil.

Detection of Oxamide, Guanidine, and Guanidine Derivatives in Spot Test Analysis.

By

Fritz Feigl and **Cl. Costa Neto.**

(Translated by *Ralph E. Oesper*, Cincinnati, Ohio, USA.)

(Received June 6, 1955.)

A specific test for dicyanogen was described recently[1], which is based on the fact that a red color develops when this gaseous compound comes into contact with an alkali cyanide solution containing 8-hydroxyquinoline. This test may be conducted within the methodology of spot testing and has an identification limit of 1 μg dicyanogen. The colored reaction product is the same as that formed in the spot test for copper described by *Komarowsky* and *Poluektoff*[2]. The chemistry of the color reaction between dicyanogen and 8-hydroxyquinoline had not been cleared up, but it is known that it is essential to employ concentrated alkali cyanide solution, probably because the hydrolysis of dicyanogen to hydrogen cyanide is thus prevented or hindered.

The new test demonstrated that dicyanogen is split off in the pyrolysis of certain organic nitrogenous compounds, i. e., when they are heated to incipient redness in a small glass tube. Another fact, hitherto unknown, was shown, namely that surprisingly many of these compounds yield hydrogen cyanide in copious amounts when pyrolyzed*. It is probable that dicyanogen appears here as primary fission product, but is transformed into hydrogen cyanide by the action of the water split out at the same time. This hypothesis is supported by the behavior of oxamide. The pyrolysis of this compound might be expected to yield dicyanogen:

$$\begin{matrix}\mathrm{CONH_2}\\ |\\ \mathrm{CONH_2}\end{matrix} \longrightarrow (\mathrm{CN})_2 + \mathrm{H_2O} \qquad (1)$$

* The pyrolytic production of dicyanogen and hydrogen cyanide may well play a role in the Beilstein test and also the Lassaigne test. This point has recently been studied by *Kainz* and associates[3] with respect to important partial processes (compare *Feigl* and *Hainberger*[1]).

but instead hydrogen cyanide is the only detectable product. Obviously, the pyrolytic fission products of (1) react in the gas phase:

$$(CN)_2 + H_2O \rightarrow HCN + HCNO \qquad (2)$$

and the dicyanogen is thus removed completely.

A procedure[4] for preparing dicyanogen is based on the heating of oxamide with phosphorus pentoxide to 160°. In this, the oxide functions as dehydrant and thus prevents the irreversible hydrolysis (2). A specific test for ether–insoluble oxamide is based on this action, since, with the exception of ether–soluble glyoxime (an isomer of oxamide), no other organic nitrogenous compound yields dicyanogen or hydrogen cyanide under these conditions. The dicyanogen liberated from oxamide can be detected by its action on moist copper-acetate benzidine paper, with which it yields a blue[5] due to the occurrence of the hydrogen cyanide reaction, or it may be revealed by means of the color reaction with oxine. This latter test has an identification limit of about 3.5 μg oxamide if conducted as a spot reaction*.

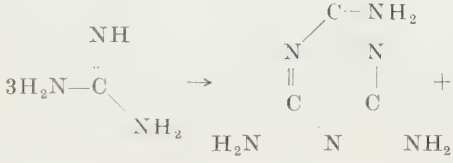
The behavior of oxamide permits the drawing of the following conclusions: In the case of compounds which yield dicyanogen as the primary product on dry heating, it cannot be detected if water is produced at the same time because hydrolysis to hydrogen cyanide is inevitable. Some hope of detecting the dicyanogen exists if the compound being pyrolyzed is rich in oxygen and yields no water, or if the oxygen-rich compound does not supply sufficient water to hydrolyze all of the dicyanogen, or if the production of water by pyrolysis *precedes* the splitting out of dicyanogen. It is evident that these limitations — entirely apart from constitutive factors that play a part in the thermal splitting of organic compounds — are met but seldom. However, if they should obtain, the detection of dicyanogen will make possible the detection in selective manner of certain nitrogenous organic compounds.

The experimental findings to date do not permit any certain statements regarding the types of compounds from which pyrolysis will yield detectable dicyanogen. However, it has been found that purine derivatives (uric acid, xanthine, adenine, caffein, theobromine, theophylline) and also dimethylglyoxime and furildioxime on dry heating yield dicyanogen only after distinct caramelization. This observation conforms to the assumption that in the case of oxygen-bearing compounds an eventual splitting off

* Because of the insolubility of oxamide, the detection limits of the test could not be determined experimentally. The value given here was computed from the detection limits of the dicyanogen test, on the assumption that the dehydration of the oxamide on heating with phosphorus pentoxide gives a 50% yield of dicyanogen. According to *Ott*[4], the yield on warming under reduced pressure is 86%.

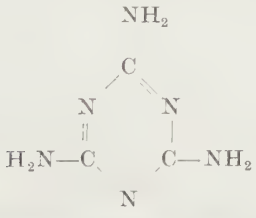
of dicyanogen can be detected only after release of water. However, release of dicyanogen certainly depends on other factors also. This is shown by the fact that only hydrogen cyanide can be detected when cyclohexanedionedioxime, dibenzyldioxime as well as nickel dimethylglyoxime is pyrolyzed, but no dicyanogen. The same is true of alkali salts of uric acid and the ethylenediamine salt of theophilline (euphyllin). Even these few instances are enough to show that the pyrolysis of organic nitrogenous compounds and the identification of the resulting cyanogen, hydrogen cyanide, and ammonia are of considerable interest from the standpoint of the chemistry of specific, selective and sensitive reactions.

To test the supposition that there is a greater probability of detecting a splitting off of dicyanogen in the pyrolysis of oxygen-free organic nitrogenous compounds, trials were made with appropriate water-soluble compounds. It was discovered that the splitting out of dicyanogen and ammonia is a very characteristic feature of the pyrolysis of guanidine and its salts. These releases can be brought into harmony with the production of melamine. *Krall*[6] proved that this compound is formed when guanidine is heated to 160°:



(3)

According to *Smolka* and *Friedreich*[7], an analogous condensation takes place if guanidine hydrochloride is heated to 180–250°, and ammonia and ammonium chloride are produced as well as melamine hydrochloride. Trials with melamine and its chloride showed that on dry heating to incipient charring, considerable quantities of dicyanogen and ammonia were given off. The following fissions come into consideration:



$$\rightarrow 3(CN)_2 + 3NH_2NH_2 \qquad (4)$$

$$\rightarrow 3(CN)_2 + 4NH_3 + N_2 \qquad (4\,a)$$

Since the gaseous pyrolysis products of melamine yield no or not more than traces of fluorescent salicylaldazine when they are brought into contact with salicylaldehyde, the failure of this sensitive test for hydrazine[8] indicates strongly that reaction (4a) is the essential decomposition reaction.

Corresponding to the condensation reaction (3), it is easy to show that ammonia is liberated when guanidine is heated to 250°. The Nessler

test is used. Guanidine hydrochloride likewise yields ammonia at this temperature, a finding which is in conformity with the statement by *Bamberger* and *Dieckmann*[9] that the formation of melamine (and other cyclic condensation products of guanidine) is preceded by the formation of diguanidine, ammonia being liberated here also.

It was logical to test the behavior of guanidine derivatives on pyrolysis with respect to the liberation of dicyanogen and hydrogen cyanide, and also to find out if ammonia is set free on heating these compounds to 250°. About 10 mg of the substance was placed in a glass tube (5 cm long × 5 mm diameter) and heated. The escaping vapors were tested for dicyanogen with oxine-potassium cyanide paper, and for ammonia with Nessler paper, and for hydrogen cyanide with copper acetate-benzidine paper. The results are given in the Table.

In addition to the compounds included in the Table, the following were also tested: salts of streptomycin and dihydrostreptomycin, chlorides of guanidine acetic acid and methylguanidine acetic acid (glycocyanine and creatine). The first two diguanido compounds, from which streptidin is split off by acid hydrolysis, behaves like the latter. Glycocyanin and creatine behave like the compounds 8 and 9 of the Table, into which they are transformed by loss of water (lactam formation) on heating.

It is evident from the Table that hydrogen cyanide may be detected in the pyrolysis products of all these salts of guanidine and its derivatives. This fact has but slight analytical significance since, as pointed out previously, very many nitrogenous organic compounds of the most varied types split off hydrogen cyanide on dry heating. In contrast, the splitting off of dicyanogen is limited to guanidine, melamine, and guanamine, a fact which leads to selective tests for these compounds*. The loss of ammonia on heating to 250° is very characteristic. As may be seen from the Table, this loss occurs only with salts of such guanidine derivatives which contain the $HN{=}C\begin{smallmatrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH-\end{smallmatrix}$-group. It is likely that the condensation reaction

$$HN{=}C(-\overset{+}{N}H_3)(-NH-) + H_3\overset{+}{N}{-}C(=NH)(-NH-) \rightarrow H_2N{=}C(-NH-)(-NH-)C(=\overset{+}{N}H_2)(-NH-) + NH_3$$

is involved. This condensation was reported first by *Bamberger* and *Dieckmann*[9] who noted it in the formation of diguanidine from guanidine

* Dicyanogen is also produced in the pyrolysis of water-soluble dicyandiamide. This conforms to the fact that this compound, which forms no salts with acids, yields ammonia and melamine on dry heating[10].

hydrochloride. It is notable that no ammonia is split off when salts of diguanidine and its derivatives are heated to 250°.

The loss of dicyanogen and ammonia by the salts included in the Table can be detected with such small samples that an analytical procedure becomes possible.

Procedure I (Detection of salts of guanidine and its derivatives which lose ammonia):

A small quantity of the solid is placed in a micro test tube; if preferred a drop of the hydrochloric acid solution may be evaporated in the test tube. All the moisture is driven off by heating in a glycerol bath (180°) for about 10 minutes. A disk of filter paper is placed over the mouth of the tube and is moistened with a drop of Nessler solution. The tube is then brought to 250° in the glycerol bath. After several minutes, the evolution of ammonia becomes evident by the development of a brown or yellow stain.

Reagent.

Nessler solution: 50 g of potassium iodide, dissolved in 35 ml water, is treated with saturated mercuric chloride solution until a slight precipitate persists. Then 400 ml of 9 N sodium or potassium hydroxide, clarified by sedimentation, is added. The solution is diluted to 1000 ml, allowed to settle, and decanted.

This procedure revealed:

2 μg guanidine carbonate (chloride)	5 μg arginine chloride
5 μg nitroguanidine chloride	100 μg streptomycine sulfate
1 μg dicyandiamidine sulfate	0.3 μg dicyandiamide

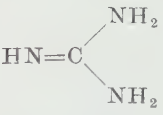
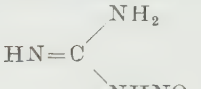
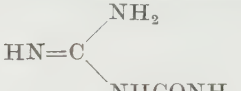
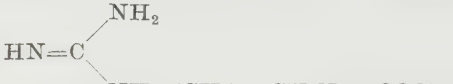
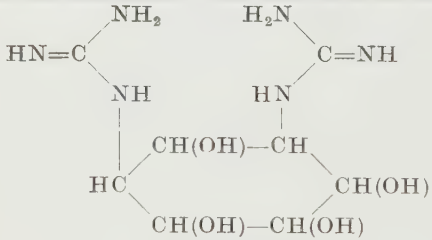
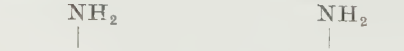
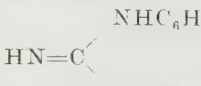
The release of ammonia on heating guanidine and its derivatives to 250° seems to be quite selective since chlorides and other salts of primary and secondary aromatic and aliphatic amines yield no ammonia. The chlorides of the 24 amino acids listed by *Karrer*[11] were tested and ammonia was found only in the case of arginine chloride.

This test cannot be applied in the presence of urea, biuret, and other urea derivatives with free NH_2 groups, since they give off ammonia when heated to 250°.

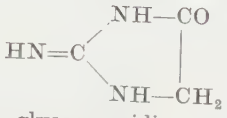
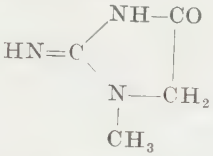
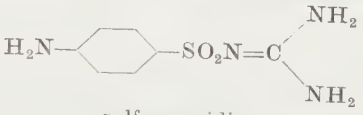
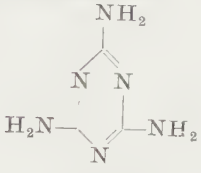
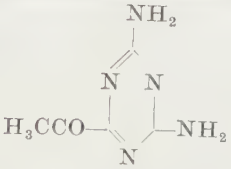
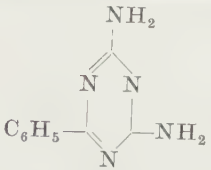
Procedure II (Detection of guanidine and its derivatives):

A small quantity of the solid sample is placed in a micro test tube or a drop of the hydrochloric acid solution is evaporated there. The mouth of the tube is covered with a disk of oxine paper spotted with potassium cyanide solution. The tube is heated in a micro flame, until charring begins. If guanidine or its salts are present, a red or pink circle appears on the reagent paper.

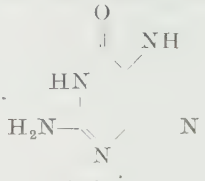
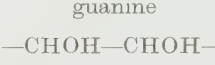
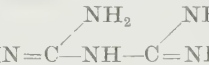
Table 1.

	Compound tested (Chloride or Sulfate)	Test for $(CN)_2$	Test for HCN	Test for NH_3
1	 guanidine	+	+	+
2	 nitroguanidine	—	+	+
3	 dicyandiamidine	—	+	+
4	 arginine	—	+	+
5	 streptidin	—	+	+
6	 synthalin	—	+	+
7	 N,N′-diphenylguanidine	-	+	+

(Continuation of Table 1.)

	Compound tested (Chloride or Sulfate)	Test for		
		$(CN)_2$	HCN	NH_3
8	 glycocyamidine	+	+	—
9	 creatinine	—	+	—
10	 sulfaguanidine	—	+	—
11	 melamine	+	+	—
12	 acetoguanamine	+	+	—
13	 benzoguanamine	+	+	—

(Continuation of Table 1.)

	Compound tested (Chloride or Sulfate)	Test for $(CN)_2$	HCN	NH_3
14	 guanine	+	+	—
	Guanine—CH—CHOH—CHOH—CH—CH_2OH		—	
15	 guanosine (guanine-riboside)	-	-	-
16	 phenylbiguanide	(+)	+	—

Reagents.

1. Oxine paper: Filter paper is impregnated with 10% ether solution of oxine (8-hydroxyquinoline) and dried in the air.

2. 25% solution of potassium cyanide in water.

This procedure revealed 150 μg of guanidine carbonate.

The absence of materials which split off water must be insured when using this test, since otherwise any pyrolytically produced dicyanogen will be saponified to hydrogen cyanide. This effect is shown very plainly in the behavior of guanine and its riboside, guanosine (compare 14 and 15 in the Table). Pyrolytic production of dicyanogen is detectable only with guanine. In the case of the riboside, the resulting water obviously saponifies the dicyanogen primarily formed. This is likewise the case in the pyrolysis of oxamide, as noted previously.

Water-soluble compounds, which also yield dicyanogen under the conditions prescribed here include: the cyclic guanidine derivatives shown in the Table, dicyandiamide, chlorides of caffein, theobromine, and theophylline (which lose hydrochloric acid on heating leaving the free alkaloid) and also uric acid and allantoin.

Acknowledgement.

We gratefully acknowledge the aid of Miss *Cecile Stark* and Miss *Lidmila Vokač* in conducting the many check trials. The Conselho Nacional de Pesquisas has supported this study; we are grateful for this cooperation.

Summary.

The dicyanogen split off from organic compounds can be detected by reaction with 8-hydroxyquinoline and alkali cyanide. Since oxamide yields dicyanogen on gentle warming with phosphorus pentoxide, and guanidine (guanidine salts) as well as melamine and guanamine produce dicyanogen on pyrolysis, specific or selective tests for these compounds have been based on this behavior.

Salts of guanidine and its derivatives containing the $HN=C\begin{smallmatrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH—\end{smallmatrix}$ group, can be detected selectively through the fact that they yield ammonia when heated to 220–250°.

Diguanidine and its derivatives give no ammonia when pyrolyzed. All these tests can be conducted as spot tests. Attention is called to interferences due to compounds which split off dicyanogen or ammonia when heated.

Zusammenfassung.

Aus organischen Verbindungen abgespaltenes Dicyan ist durch die Rotfärbung bei Umsetzung mit 8-Oxychinolin und Alkalicyanid nachweisbar. Da Oxamid bei gelinder Erwärmung mit Phosphorpentoxyd und Guanidin (Guanidinsalzen) sowie Melamin und Guanamin bei ihrer Pyrolyse Dicyan abspalten, so läßt sich darauf ein spezifischer bzw. selektiver Nachweis der genannten Verbindungen begründen. Salze des Guanidins und dessen Derivate mit einer freien $HN=C\begin{smallmatrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH—\end{smallmatrix}$-Gruppe sind selektiv nachweisbar durch den Nachweis des bei ihrer Pyrolyse abgespaltenen Ammoniaks. Diguanidin und seine Derivate geben bei der Pyrolyse kein Ammoniak ab. Sämtliche Nachweise sind in der Arbeitsweise der Tüpfelanalyse ausführbar. Auf die störende Wirkung von Substanzen, die Dicyan oder Ammoniak beim Erhitzen abgeben, wird hingewiesen.

Résumé.

Le dégagement de dicyanogène résultant de la dégradation de composés organiques peut être détecté par la 8 hydroxyquinoléine et un cyanure alcalin. Il résulte de ce fait que l'on a pu mettre au point des tests spécifiques ou sélectifs pour l'oxamide qui, par chauffage doux en présence d'anhydride phosphorique donne naissance à du dicyanogène, ainsi que pour la guanidine (sels de guanidine), la melamine et la triazine symétrique dont la pyrolyse produit également du dicyanogène.

Les sels de guanidine et de ses dérivés contenant le groupement $HN=C\begin{smallmatrix}\diagup NH_2\\ \diagdown NH—\end{smallmatrix}$ peuvent être détectés sélectivement par le dégagement d'ammoniac qui se produit lorsqu'on les chauffe à 220—250°.

La pyrolyse de la biguanidine et de ses dérivés ne produit pas d'ammoniac. Tous ces tests peuvent être effectués sous forme d'essais à la touche. On attire l'attention sur les perturbations apportées par les composés qui donnent naissance à du dicyanogène ou de l'ammoniac par chauffage.

References.

[1] *F. Feigl* and *L. Hainberger*, Analyst, in press.

[2] *A. S. Komarowsky* and *W. S. Poluektoff*, Z. analyt. Chem. **96**, 23 (1934).

[3] *G. Kainz* and *A. Resch*, Mikrochem. **39**, 75 (1952); *G. Kainz* and *F. Schöller*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 327.

[4] *E. Ott*, Ber. dtsch. chem. Ges. **52**, 663 (1919); compare also *Th. Wallis*, Ann. Chem. **345**, 362 (1906).

[5] *A. Sievert* and *A. Hermsdorf*, Z. angew. Chem. **34**, 3 (1921); compare also *F. Feigl*, Spot Tests. 4th ed. Vol. I. New York: Elsevier. 1954. p. 258.

[6] *H. Krall*, J. Chem. Soc. London **107**, 1399 (1915).

[7] *A. Smolka* and *A. Friedreich*, Mh. Chem. **10**, 91 (1889).

[8] *F. Feigl* and *W. A. Mannheimer*, Mikrochem. **40**, 50 (1953).

[9] *E. Bamberger* and *W. Dieckmann*, Ber. dtsch. chem. Ges. **25**, 543 (1892).

[10] *E. Drechsel*, J. prakt. Chem. [2] **13**, 331 (1876).

[11] *P. Karrer*, Organic Chemistry, 4th English ed. New York: Elsevier. 1950. pp. 286, 287.

Coates Chemical Laboratory, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana (USA).

A New Spot Test for Silver.

By

Buddhadev Sen* and **Philip W. West.**

(Received June 10, 1955.)

The detection of traces of noble metals has always been considered an important problem in analytical chemistry. The methods employed include spot tests, formation of colored precipitates or solutions, microscopic examination of distinctive crystalline compounds, and the catalytic action of silver ion on certain reactions. Among the methods of trace analysis, the spot test technique excels many others in its simplicity and rapidity. A large number of procedures for the detection of silver, either by spot tests or by precipitation in solution, have been developed depending upon the reduction of silver ion to grey or black metallic silver by such compounds as stannous chloride[1], chloral[2], gallic acid[2], hydroquinone[2] and alkaline manganous solution[3]. A very sensitive reaction depending upon the reduction of silver bromide by a developer solution has been described[4]. Potassium chromate in acetic acid[5], p-dimethylaminobenzylidenerhodanine[6] and p-aminophenol[7] have been described as spot test reagents for silver. *Feigl*[8] used the catalytic effect of the silver ion on the reduction of mercurous chloride by phenylhydrazine as the basis for the detection of silver ion. A microscopic method of detecting silver is based on the examination of silver anthranilate precipitate[9].

The present method, although a spot test, is radically different in principle from all the methods referred to above, and is essentially a demasking reaction. The reagent solution from which the test papers are prepared is an equilibrium mixture of potassium tetracyanonickelate and dimethylglyoxime, prepared by suspending excess nickeldimethyl-

* On leave from "The College of Engineering and Technology, Bengal" Jadavpur, Calcutta-32, India.

glyoximate in a solution of potassium cyanide, and then filtering the solution after equilibrium has been established. The following equations summarize the chemistry of the test:

$$Ni(HD)_2 + 4CN^- \rightleftharpoons Ni(CN)_4^{2-} + 2HD^- \xrightarrow{Ag^+} [Ag(CN)_2]^- + \underset{(red)}{Ni(HD)_2}$$

where $Ni(HD)_2$ and HD^- represent nickel dimethylglyoximate and the dimethylglyoximate ion, respectively. A small amount of silver ion removes an appreciable amount of cyanide and thus shifts the above equilibrium, enabling the nickel ions to react with dimethylglyoxime and develop the characteristic red fleck. *Feigl*[10] has described a test for the detection of silver halides in solid residues which is essentially the same in principle.

Experimental.

Reagents.

All reagents used in the study were of A. R. grade.

Whatman No. 1 filter papers were used for preparing the test papers.

Nickeldimethylglyoximate was prepared according to standard quantitative procedure.

Preparation of the Reagent Solution.

The test papers prepared from the following solution were found to be most satisfactory in regard to sensitivity and keeping properties. Nickeldimethylglyoximate (0.5 g) was suspended in 100 ml of 0.4 per cent potassium cyanide solution. The suspension was well shaken and allowed to stand for 24 hours, after which it was filtered and the filtrate was stored in a pyrex bottle and kept away from light.

Preparation of the Test Paper.

Whatman No. 1 filter paper circles (11 cm) were dipped in the reagent solution and quickly dried under an infra red lamp and stored in stoppered bottles. The reagent papers prepared from the above reagent solution were almost white and were stable for three to four weeks.

Method of Detecting Silver.

The reagent paper was treated with a drop of the test solution which was previously adjusted to neutrality. In the presence of silver, a distinctive red fleck was formed at the center of the spot. When the reagent paper was treated with an acidic test solution, the test solution

was immediately followed by a drop of a saturated solution of ammonium acetate, and the characteristic red color of nickel dimethylglyoximate was developed.

Interfering ions.

Gold(III) and nickel(II) gave positive tests. With gold(III) a reddish brown ring was formed around the circumference of the spot. The reason for interference by nickel is quite obvious, since the test itself is based on increasing the nickel concentration of an equilibrium system in which nickel ion is involved. The following ions gave no positive test. Lithium, sodium, potassium, thallium(I), beryllium, magnesium, calcium, strontium, barium, copper(II), cadmium, zinc, mercury(II), cobalt(II), bismuth(III), antimony(III), cerium(III) and (IV), tin(II) and (IV), thorium, ruthenium-(III), iridium(IV), platinum(IV), palladium(II), uranyl, lead(II), iron(II) and (III).

Sensitivity.

Limit of identification = 0.5 μg of silver.

Concentration limit = 1 : 100000.

The filtrate from silver chloride precipitate which gave no positive test of silver with chloride, gave a distinct test for silver, when a drop of the filtrate was placed upon the test paper.

Discussion.

From the experimental results, it appears that the present test is one of the best methods for the detection of silver ion. The test suffers from a relatively small number of interfering ions and is highly sensitive. The procedure is the ultimate in simplicity, and the reagent papers are fairly stable when properly kept.

Acknowledgment.

The financial assistance of the Mine Safety Appliances Company is gratefully acknowledged.

Summary.

A new spot test for silver has been developed. Test papers are prepared by impregnating filter paper with an equilibrium mixture of potassium tetracyanonickelate and dimethylglyoxime. As little as 0.5 μg of silver can be detected.

Zusammenfassung.

Ein neuer Tüpfelnachweis für Silber wurde ausgearbeitet. Man imprägniert Filtrierpapier mit einer Gleichgewichtslösung von Kaliumnickeltetracyanid und Dimethylglyoxim. 0,5 μg Silber können nachgewiesen werden.

Résumé.

On a mis au point un nouvel essai à la touche de l'argent. Les papiers servant aux essais sont préparés par imprégnation de papier filtre par le mélange de tétracyanonickelate de potassium et de diméthylglyoxime ayant la composition d'équilibre. On peut ainsi détecter des traces d'argent de 0,5 μg.

References.

[1] *N. A. Tananaeff*, Z. anorg. Chem. **140**, 320 (1924).
[2] *N. D. Costeanu*, Mikrochem. **26**, 170 (1939).
[3] *N. A. Tananaeff*, Z. anorg. Chem. **170**, 120 (1928).
[4] *P. E. Wenger* and *R. Duckert*, Reagents for Qualitative Inorganic Analysis. New York: Elsevier. 1948. p. 3.
[5] *F. Feigl*, Spot Tests. New York: Nordman. 1937. p. 13.
[6] *F. Feigl*, Spot Tests, 4th Ed., Vol. I. New York: Elsevier. 1954. p. 56.
[7] *E. A. Kocsis*, Mikrochem. **29**, 166 (1941).
[8] *F. Feigl*, Mikrochem. **10**, 305 (1931).
[9] *O. G. Sheintsis*, J. Gen. Chem. (U. S. S. R.) **8**, 596 (1938).
[10] *F. Feigl*, Mikrochem. **20**, 198 (1936).

Aus dem Institut für Technische Chemie der Technischen Hochschule Hannover.

Zur Kenntnis der Glukosebestimmung nach Hagedorn und Jensen.

Von

E. Paschke.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 13. Juni 1955.)

Glukose wird vorteilhaft und genau nach der Methode von *Hagedorn* und *Jensen*[1] bestimmt.

Das hierbei verwendete Oxydationsmittel Kaliumferricyanid steht in großer Reinheit zur Verfügung und die daraus hergestellten Lösungen sind gut haltbar. Die Rücktitration des von der Glukose nicht reduzierten Kaliumferricyanids mit Jod ermöglicht mit einfachen Hilfsmitteln, auch in sehr verd. Lösungen (0,005-n) den Umschlagspunkt scharf zu erkennen. Eine Rückoxydation des bei der Reduktion gebildeten Ferrocyanids erfolgt in keinem Falle, auch nicht mit eingeblasenem Sauerstoff, da das Kaliumferrocyanid als unlöslicher Zinkkomplex vorliegt.

Je nach der Menge der zu bestimmenden Glukose in der Analysenprobe kann man weiterhin auf modifizierte Methoden dieses Verfahrens nach *Hanes*[2] und *v. Issekutz*[3] zurückgreifen.

Die Entscheidung zwischen einer der drei Methoden fällt aber insofern schwer, als die aus diesen Arbeiten für die Reduktion von Kaliumferricyanid durch Glukose abzuleitenden Äquivalente um mehr als 10% voneinander verschieden sind. Diese Tatsache ist wohl deswegen wenig beachtet worden, weil die Ansicht herrscht, daß es keine Proportionalität zwischen oxydierter Glukosemenge und reduziertem Oxydationsmittel gibt, und somit für verschiedene Probemengen unterschiedliche Faktoren benutzt werden müssen.

Im Rahmen von Arbeiten über Dextran sahen wir uns vor die Aufgabe gestellt, Glukose in wäßriger Lösung zu bestimmen. Da wir uns wegen der oben angeführten Differenzen nicht ohne Bedenken für eine der drei

Tabelle 1. Bestimmung des Reduktionswertes für Glukose.

ml Lösung einpipettiert	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Einwaage Glukose in mg	1,45	2,91	4,36	5,81	7,27	8,72	10,17	11,62	13,08	14,53
ml 0,05-n Ferricyanid reduziert, Versuch A	0,92	1,87	2,80	3,76	4,64	5,58	6,50	7,42	8,31	—
ml 0,05-n Ferricyanid reduziert, Versuch B	0,97	1,88	2,74	3,64	4,59	5,50	6,64	7,51	8,39	9,33
ml 0,05-n Ferricyanid reduziert, Versuch C	0,96	1,86	2,80	3,71	4,69	5,52	6,39	7,51	8,35	9,35
ml 0,05-n Ferricyanid reduziert, Mittelwerte	0,95	1,87	2,78	3,70	4,64	5,55	6,51	7,48	8,35	9,34
Größte Abweichung vom Mittelwert in %	3,0	1,9	1,4	1,6	1,1	0,5	2,0	0,8	0,5	0,1

Analysenmethoden entscheiden konnten, haben wir nochmals für Glukose eine Eichkurve aufgenommen.

Versuchsdurchführung und Ergebnisse.

Da uns die modifizierte Methode nach *v. Issekutz*[3] am überzeugendsten erschien, hielten wir uns zunächst an diese Vorschrift. Da wir reine Glukose nicht käuflich erwerben konnten, stellten wir sie uns selbst aus Mercks Traubenzucker für bakteriologische Zwecke her. Das Material wurde so oft durch Umkristallisieren aus Alkohol gereinigt, bis der Schmelzpunkt und die optische Drehung konstant waren. Wir haben bei der Glukose, die wir zur Aufstellung der Eichkurve verwendeten, einen Schmelzpunkt von 145,5 bis 146° C gemessen (Literaturwert 146° C). Nach sorgfältiger Trocknung der reinen Glukose in der Trockenpistole wurde zur Bestimmung der optischen Drehung eine Lösung von 2,9576 g Glukose in 100 ml reinem dest. Wasser hergestellt. Mit einem 2-dm-Rohr wurde für die Lösung eine optische Drehung von 3,115° (Mittelwert) gemessen. Daraus errechnet sich eine spezifische Drehung von 52,66°. Der Literaturwert[4] ist 52,50°, woraus ein Meßwert für das 2-dm-Rohr mit obiger Probelösung von 3,105° zu erwarten ist. Die Glukose war also nach Schmelzpunkt und optischer Drehung als chemisch rein anzusprechen. Eine weitere Überprüfung der Probe in einem Papierchromatogramm ergab gleichfalls ihre Reinheit. Von dieser gereinigten Glukose wurden 726,3 mg mit dest. Wasser zu 500 ml gelöst. Die Lösung enthielt danach 1,453 mg Glukose pro ml. In 30 Einzelbestimmungen nach der Methode von *v. Issekutz*[3] wurden Proben mit steigenden Mengen von Glucose analysiert und die äquivalenten Mengen des reduzierten Ferricyanids bestimmt.

Die in Tabelle 1 zusammengestellten Ergebnisse aus 30 Einzelbestimmungen mit wechselnden Glukosemengen ergaben nach graphischer

Mittlung die in Abb. 1 dargestellte Eichkurve. Die Analysen beweisen, daß man auch bis hinauf zu Werten von 15 mg Glukose in der Probe eindeutig eine Gerade erhält. Die Oxydationsreaktion ändert also ihren sicher komplexen Ablauf nicht mit der Zuckerkonzentration. Die Untersuchungen zeigen weiterhin, daß die aufgenommene Eichkurve genau durch den Nullpunkt geht. Das bedeutet, daß der bei *Hagedorn* und *Jensen* bzw. *Hanes* angegebene Blindwert offensichtlich von der Verwendung unreiner Reagenzien, speziell unreiner Glukose herrührt.

Desgleichen haben wir gefunden, daß jodometrische Titrationen einer abgemessenen Ferricyanidmenge nach 20 Minuten Erhitzen auf siedendem

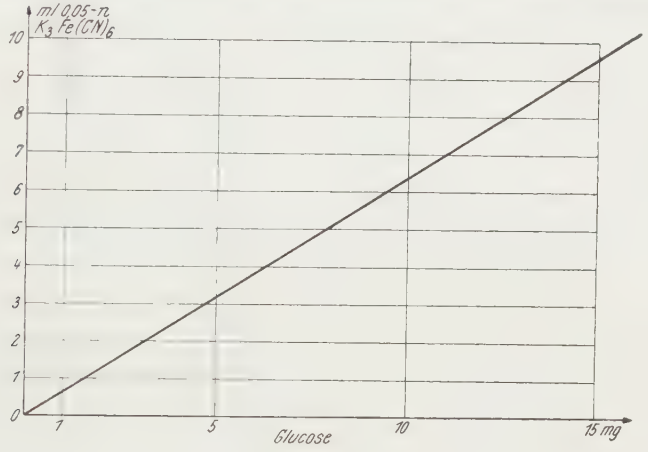


Abb. 1.

Wasserbad und vor dem Erhitzen genau gleiche Werte liefern. Damit entfällt bei der Glukosebestimmung die Blindwertbestimmung vollständig. Man braucht die gefundenen ml 0,05-n reduzierter Ferricyanidlösung nur mit dem Faktor 1,567 zu multiplizieren, um die gesuchte Menge Glukose zu erhalten. Ein Mol Glukose benötigt also 5,75 Oxydationsäquivalente.

Schon *Fujita Iwatake*[5] hat für diese Bestimmungsmethode Proportionalitätsfaktoren von 1.74 und 1,50 angegeben. Den Faktor 1,74 fand er bei 0,05-n Kaliumferricyanidlösung für 1 ml Probe, den Faktor 1.50 für 5 ml Probelösung. Dieser Unterschied ist darauf zurückzuführen, daß *Fujita Iwatake* nur die p_H-Abhängigkeit der Reduktion berücksichtigt hat, nicht aber die Abhängigkeit von der Sodamenge, obwohl *v. Issekutz* bereits experimentell zeigte, daß bei 5 g und bei 17 g Natriumcarbonat pro l Ferricyanidlösung sich noch deutlich Abweichungen im Reduktionswert ergeben, der p_H-Wert dieser Lösungen aber praktisch gleich war. Diese Abhängigkeit von der Sodamenge ergibt sich auch aus der Vorschrift von *v. Issekutz*, der als brauchbarste Sodakonzentration 70 g/l ermittelt hat.

Auch weitere Angaben von *v. Issekutz* konnten bestätigt werden. So war bei der Glukoseanalyse die Menge des reduzierten Ferricyanids zwischen Erhitzungszeiten von 15 bis 45 Minuten im siedenden Wasserbad von der Erhitzungsdauer unabhängig. Im Gegensatz dazu stehen die Angaben von *Hanes*[2], der keine zeitunabhängigen Werte finden konnte und daher die Erhitzungszeit auf genau 15 Minuten standardisiert hat. Dieser Mangel liegt, wie man schon aus der Arbeit von *v. Issekutz* ersehen kann, an der zu geringen Menge von Natriumcarbonat in der Ferricyanidlösung bei *Hanes*. Nach unseren Versuchen erreicht erst bei einem Zusatz von zirka 30 g Natriumcarbonat pro l Ferricyanidlösung der Reduktionswert schnell einen zeitlich konstanten Grenzwert.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß bis zu hohen Glukosekonzentrationen strenge Proportionalität zwischen vorgegebener Glukose und reduzierter Menge $K_3[Fe(CN)_6]$ besteht.

Danach kann man bei Glukosebestimmungen nach *Hagedorn-Jensen* bei richtiger Arbeitsweise sowohl auf die in den einschlägigen Arbeiten angegebenen Tabellen als auch auf die Blindwertbestimmungen verzichten.

Summary.

It has been found that there is strict proportionality between the presupposed glucose concentration and the amount of potassium ferricyanide reduced. This holds up to high concentrations of glucose. Accordingly, when determining glucose by the *Hagedorn* and *Jensen* procedure, it is not necessary to use the tables given in the comprehensive studies nor are blank determinations needed, provided the directions are properly followed.

Résumé.

On montre que jusqu'à des concentrations élevées de glucose il existe une rigoureuse proportionnalité entre la quantité de glucose introduite et la quantité de ferricyanure de potassium réduite. Il en résulte que si l'on suit le mode opératoire correct lors de la détermination du glucose d'après *Hagedorn* et *Jensen*, il est inutile de tenir compte des tableaux donnés dans les communications correspondantes ainsi que des corrections d'essais à blanc.

Literatur.

[1] *H. Hagedorn* und *B. Jensen*, Biochem. Z. **135**, 46 (1923).
[2] *Ch. S. Hanes*, Biochem. J. **23**, 99 (1929).
[3] *B. v. Issekutz* und *J. v. Roth*, Biochem. Z. **183**, 298 (1927).
[4] *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen, 5. Aufl., 2. Bd. Berlin: J. Springer. 1923. S. 1001.
[5] *Fujita Iwatake* in „Methoden der Fermentforschung, herausgegeben von *E. Bamann* und *K. Myrbäck*, 2. Bd. Leipzig: G. Thieme. 1941. S. 1074.

Coates Chemical Laboratories, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, USA.

Extraction of Mercury(I) and (II) and Subsequent Spot Test Detection with Dithizone.

By

Philip W. West and **McGee A. Duff.**

(Received June 25, 1955.)

Dithizone has long been used for the detection of small amounts of mercury. A variety of methods for the detection of this metal in inorganic systems by means of dithizone have been reported[1–12] but all procedures described to date have suffered from numerous interferences because of the well known lack of selectivity of this reagent. The detection of mercury with dithizone in organic material has been reported by *Kramerman*[13] and *Winkler*[14,15]. A number of review papers on the general use of dithizone have also appeared[16–20]. *Miller* and *Lowe*[8] have described the separation of mercury(II) by extraction with ethyl acetate and subsequent detection with diphenylcarbazone. They reported that this method could be applied for the range of 0.25 to 50 milligrams of mercury provided that the extraction was carried out in the presence of hydrochloric acid (about 0.2 M). It was found in the present investigation that the percentage of extraction of mercury(II) was decreased considerably if the chloride concentration was above 0.1 M (see Table I). This can account in part for the lack of sensitivity of their test.

A test consisting of an almost specific extraction of mercury by n-butyl acetate in the presence of trichloroacetic acid and subsequent detection with dithizone in the extract is now proposed. The interference of all ions which normally react with dithizone, except gold(III), was eliminated by the use of oxalic acid as a masking agent.

Reagents and Solutions.

Trichloroacetic acid, 3 M aqueous solution.
Oxalic acid, 10 per cent aqueous solution.

Chloroform, analytical reagent.

n-Butyl acetate, CP.

Dithizone, Eastman, White Label, no further purification, 0.002 per cent (wt./vol.) in chloroform.

Mercury(I) stock solution. About 3 g mercury(I) nitrate were dissolved in one liter of distilled water containing 5 ml of nitric acid. This solution was then standardized by titrating the mercury(I) with standard potassium thiocyanate using iron(III) as the indicator. Checks were carried out periodically to determine any change in concentration. The concentration of the stock solution was 2.32 mg mercury/ml. More dilute solutions were made by taking aliquots of the stock solution and diluting them to an appropriate volume. The concentrations of these solutions ranged from 10 μg/ml to 100 μg/ml. A small drop of metallic mercury was placed in each of the solutions to insure the retention of the mercury(I) form.

Mercury(II) stock solution. 1.179 g of mercury was dissolved in 5 ml of nitric acid and diluted to 250 ml in a volumetric flask. The concentration of the stock was 4.61 mg mercury/ml. Solutions ranging from 10 μg/ml to 100 μg/ml were made up by dilution of aliquots of the stock solution.

Experimental and Discussion.

The general technique followed was to isolate mercury(I) and/or (II) by extracting with n-butyl acetate in the presence of trichloroacetic acid. Dithizone was then added to the extract as a means of detecting the isolated metal. The details are given under *Procedure*. It was found that in the range of 10 to 100 μg of mercury per 5 ml, the extraction was 89 to 82 per cent complete in a single pass. These data are shown in Table II. When two passes were made using 5 ml n-butyl acetate each time, the efficiency of extraction of 10 μg was increased to 98 per cent. The same results were obtained by using 10 ml of n-butyl acetate in one pass. Chloride ion must be absent in the extraction of mercury(I) and must not exceed 0.1 M in the extraction of mercury(II). See Table I.

Table I. Effect of Chloride Ion on Extractability of Mercury(II).

HCl^-	μg Hg^{++} taken	μg Hg^{++} remaining	% Extraction
0.00	100	18	82
0.125	100	20	80
0.25	100	42	58
0.50	100	100	0
1.00	100	100	0
2.00	100	100	0

Table II. Efficiency of Extraction of Mercury(II) in the Presence of Trichloroacetic Acid and Oxalic Acid.

μg Hg^{++} taken	μg Hg^{++} remaining	% Extraction
100	18.1	81.9
100	18.0	82.0
60	9.0	85.0
20	2.6	87.0
20	2.4	88.0
10	1.1	89.0
10	1.1	89.0
10*	1.1	89.0
10*	1.1	89.0

* Mercury(I) instead of Mercury(II).

The efficiency of extraction was determined as follows: 5 ml of solution containing mercury ion and trichloroacetic acid were extracted with 5 ml of n-butyl acetate. An aliquot of the raffinate containing from 5 to 15 μg mercury was then placed in a separatory funnel. One drop of concentrated sulfuric acid and 2 ml of 6 M acetic acid were added and the solution diluted to 20 ml. A few milliliters of chloroform were added and the mixture shaken to saturate the raffinate. The chloroform was drawn off and discarded. 5 ml of 0.001 per cent dithizone in chloroform were added and the mixture shaken for one minute. The optical density of the extract was read at 510 mμ using a Beckman Model B spectrophotometer with 1.00-cm Corex cells. The amount of mercury was determined from a standard curve. For the detection of mercury, it was found that the use of a small volume of solution and extracting only once was sufficient to detect as little as 1 μg of mercury.

Interference studies followed the procedure of *West*[21]. In each case, the amount of the interfering ion taken was 500 μg and the amount of mercury taken was 5 μg. The interferences are gold(III), the halides, cyanide, thiocyanate, and sulfide.

Procedure.

To one drop of the test solution in a 5-ml beaker, add 10 drops of trichloroacetic acid (3 M), 3 drops of oxalic acid (10 per cent), and 1 ml n-butyl acetate. Mix thoroughly with an extraction pipet and allow the phases to separate. Discard the raffinate, which is the lower layer. Place the extract on a white spot plate and add 2–3 drops of 0.002 per cent dithizone in chloroform. An orange color indicates the presence of mercury.

The limit of identification was found to be 1 μg of mercury in 1 ml of extract.

Remarks.

This method for mercury, although not employing a new reagent, offers a very good way of isolating mercury prior to subsequent identification. The significance of the work lies in the fact that the mercury is extracted from an aqueous solution into an organic phase and is then detected directly in the non-aqueous system. Normal interferences are eliminated by the extraction. It was found that the addition of two drops of a saturated solution of sodium nitrate decreased the time required for the two phases to separate. Solutions of dithizone in n-butyl acetate were found to be relatively unstable, consequently the dithizone should be made up and used in a chloroform solution.

Acknowledgment.

The authors acknowledge the aid of the Office of Ordnance Research, under whose program this research was conducted.

Summary.

Mercury(I) or (II) may be isolated by the extraction of a trichloroacetic acid solution of the ion with n-butyl acetate. The addition of a small amount of dithizone to the extract serves as a means of detecting mercury in the non-aqueous phase. The interferences are gold(III), the halides, cyanide, thiocyanate, and sulfide.

Zusammenfassung.

Quecksilber(I)- und -(II)ionen lassen sich aus trichloressigsaurer Lösung mit n-Butylacetat extrahieren. Durch Zusatz einer kleinen Menge Dithizon zum Extrakt kann man Quecksilber in der nichtwäßrigen Phase nachweisen. Gold(III), Halogenide, Cyanid, Rhodanid und Sulfid stören den Nachweis.

Résumé.

Les ions mercure (I) ou (II) peuvent être isolés par leur extraction d'une solution dans l'acide trichloracétique par l'acétate de butyle normal. L'addition d'une petite quantité de dithizone à l'extrait permet de détecter le mercure dans la phase non aqueuse. Les substances gênantes sont l'or trivalent, les halogènures, cyanures, thiocyanates et sulfures.

Literature Cited.

[1] *H. Fischer*, Z. angew. Chem. **42**, 1025 (1929).
[2] *H. Fischer*, Angew. Chem. **46**, 442 (1933).
[3] *H. Fischer*, Angew. Chem. **46**, 517 (1933).
[4] *H. Fischer*, Angew. Chem. **47**, 685 (1934).
[5] *H. Fischer*, Z. analyt. Chem. **103**, 241 (1935).
[6] *G. Gorbach* and *F. Pohl*, Mikrochem. **38**, 258 (1951).
[7] *H. Irving*, *G. Andrew* and *E. J. Risdon*, J. Chem. Soc. London **1949**, 541.
[8] *C. C. Miller* and *A. J. Lowe*, J. Chem. Soc. London **1940**, 1263.

[9] *A. Steigmann*, J. Soc. Chem. Ind. **62**, 43 (1943).
[10] *Y. Uzumasa* and *I. Miyashita*, J. Chem. Soc. Japan, Pure Chem. Sect. **72**, 38 (1951).
[11] *V. Vasak* and *V. Sedivec*, Chem. Listy **45**, 10 (1951).
[12] *H. Wolbling* and *B. Steiger*, Angew. Chem. **46**, 279 (1933).
[13] *P. A. E. Kramerman*, S. African J. Sci. **41**, 165 (1945).
[14] *W. O. Winkler*, J. Assoc. Off. Agric. Chemists **18**, 638 (1935).
[15] *W. O. Winkler*, J. Assoc. Off. Agric. Chemists **21**, 220 (1938).
[16] *F. T. Beaument*, Metallurgia **29**, 217 (1944).
[17] *F. T. Beaument*, Metallurgia **31**, 151 (1945).
[18] *L. Fresenius*, *W. Fresenius* and *M. Frommes*, Z. analyt. Chem. **96**, 128 (1934).
[19] *H. Fischer*, Angew. Chem. **50**, 919 (1937).
[20] *H. Fischer*, *M. Passer* and *G. Leopoldi*, Mikrochem. **30**, 307 (1943).
[21] *P. W. West*, J. Chem. Education **18**, 528 (1941).

Laboratório da Produção Mineral, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brazil.

Catalytic Detection of Cyanide Through the Benzoin Condensation.

By

Fritz Feigl and **Alcides Caldas.**

(Translated by *Ralph E. Oesper*, Cincinnati, Ohio, USA.)

(Received August 10, 1955.)

It has been found[1] that benzoin is among those organic compounds which may be detected by reaction with o-dinitrobenzene. In alkaline solution such compounds function as hydrogen donors and reduce the dinitrobenzene to a violet water–soluble alkali salt of an ortho quinoidal nitrol-nitroic acid. These reactions of this dinitro compound were first observed and studied by *Meisenheimer*[2] with respect to the behavior toward certain inorganic reductants. The color reaction was employed later by *Bose*[3] for the detection of reducing sugars and by *Pesez* and *Poirier*[4] for detecting polyphenols, ascorbic acid, phenylhydrazine, and hydrazobenzenes. *Kuhn* and *Weygand*[5] clarified the chemistry of the redox reaction.

As was to be expected, other aliphatic and aromatic α-hydroxyketones (acyloins and benzoins) behave similarly to benzoin because of their conversion to α-diketones by loss of hydrogen. Since benzoin, and also furoin, can be detected by a spot test through the color reaction with o-dinitrobenzene (identification limit: 5 μg), attempts were made to arrive at a general test for aromatic aldehydes by combining the benzoin condensation, which is characteristic for aromatic aldehydes. with the redox reaction with o-dinitrobenzene.

The reaction

$$\mathrm{ArCHO} + \mathrm{OHCAr} \rightarrow \mathrm{ArCHOHCOAr}$$

which is generally applicable for preparation purposes[6], is conducted by warming 0.2 mol of the aldehyde dissolved in 100 ml alcohol with 20 ml of 50% solution of potassium cyanide in water. It has been found

that if a mixture of one drop of alcohol solution of benzaldehyde and one drop of potassium cyanide solution is taken to dryness, the residue contains enough benzoin to be revealed by the o-dinitrobenzene test. Likewise, the violet color characteristic for α-hydroxyketones appears within several minutes if a mixture of one drop each of alcoholic benzaldehyde- and o-dinitrobenzene solution and aqueous potassium cyanide is warmed. The same behavior was observed with furfurol. In this way, it was possible to detect 150–200 μg of these aldehydes. However, the benzoin condensation did not occur at all under these conditions when other aromatic aldehydes were tried, or larger quantities of the latter were necessary to give a positive response. Consequently, the effort to develop a test for aromatic aldehydes by means of the benzoin condensation was abandoned, and attention was turned to working out a test for cyanide by means of this condensation.

The indispensable potassium cyanide does not appear in the equation of the benzoin condensation. It functions as catalyst, and there are various opinions as to how it participates in the partial reactions in which it takes part and is regenerated[7]. Although considerable amounts of alkali cyanide are used in the preparative procedure for benzoin, the catalytic nature of the condensation leads to the conclusions that much smaller quantities than are ordinarily specified would suffice. If this is true and if the reaction velocity is high enough, it could also be expected that a new test for cyanide could be reached by employing the color reaction of benzoin with o-dinitrobenzene. Both conditions obtain, and if certain simple restrictions are observed, it is possible to detect soluble, insoluble, and complex cyanides in an alkaline milieu. This very sensitive test is specific, provided that sulfides and reducing compounds are absent.

Procedure: The test is conducted in a micro test tube. A drop of the test solution is treated with 1–2 drops of the alkaline benzaldehyde solution and the mixture heated in the water bath for 2–5 minutes. One drop of 5% solution of o-dinitrobenzene (in benzene) is then added and the heating continued. Depending on the quantity of cyanide present, a more or less intense violet color develops after $^1/_2$–3 minutes. If very slight amounts of cyanide are suspected, it is advisable to run a blank for comparison.

Benzaldehyde reagent: 0.5 ml of highly pure benzaldehyde is treated with 0.5 ml of 6 N sodium hydroxide and made up to 5 ml with alcohol. The reagent solution should be freshly prepared and it should be colorless.

To determine the sensitivity of this test, well washed silver cyanide was suspended in water, shaken for several hours, and one drop of the clear supernatant liquid taken for testing. A definite positive response was obtained to the benzoin-o-dinitrobenzene reaction. In view of the slight solubility of silver cyanide, this result corresponds to an identification limit of about 0.01 μg cyanide ion and a dilution limit of 1 : 5000000.

It is in line with the pronounced sensitivity of the catalytic cyanide reaction that solutions of mercury cyanide, alkali ferro- and ferricyanide, and also alkali nickel cyanide promptly react. The same is true of a suspension of palladium cyanide. In contrast, the spot reaction for cyanide failed with water saturated with this latter salt. If illuminating gas is kept briefly in contact with slightly basic water, the alkali cyanide formed from the dicyanogen or hydrocyanic acid can be detected by the test described here.

Aside from its practical value, this new test for cyanide is also of interest to the chemistry of specific, selective and sensitive reactions[8]. In 1931, the senior author predicted that catalysis reactions were certain to be of prime importance in microanalysis[9]. His reasoning was that catalytic actions can be accomplished by traces of materials and that they limit their action to definite reaction systems. From the analytical standpoint, this signifies simply the attainability of great sensitivity and high selectivity. The intervening years have demonstrated the accuracy of this prediction regarding tests based on catalytic actions. No less than 145 examples are given in the bibliography assembled by *West*[10]. A review of them shows that almost all of the catalysis reactions used up to now for analytical ends involve inorganic ions acting in redox reactions. This is not the case in the catalysis of the benzoin condensation since the organic cyanide ion does not enter into any redox reaction here. Accordingly, the familiar cyanide catalysis of the benzoin condensation turns attention to the possibility of an analytical employment of those organic syntheses or preparation procedures which can be hastened catalytically, and in which the reaction products in their turn can be detected by inorganic or organic compounds. The principle of the analytical employment of syntheses and methods of forming organic compounds through the detection of the resulting reaction products has proved very useful in arriving at new tests for functional groups[11]. In the case of the catalytic acceleration of organic reactions, an additional factor needs to be considered, namely that so much of the reaction products may be produced that even insensitive reagents are good enough to reveal the presence of these abundant products. In other words, the application of otherwise uninteresting tests may serve to reveal indirectly catalytically-active materials, and with great sensitivity and specificity.

Acknowledgement.

This study was supported by the Conselho Nacional de Pesquisas. We are grateful for this aid.

Summary.

The well known benzoin condensation can be realized already with traces of cyanide. Based on this fact, and using the sensitive color

reaction of benzoin with o-dinitrobenzene, a test for cyanide in alkaline solution was developed. When carried out as a spot reaction, an identification limit of 0.01 μg cyanide is obtained.

The test cannot be employed in the presence of sulfides and such compounds which function as hydrogen donators in alkaline solution (reducing sugar etc.).

Zusammenfassung.

Die seit langem bekannte Benzoinkondensation wird bereits durch Spuren Cyanid herbeigeführt. Darauf und unter Heranziehung einer empfindlichen Farbreaktion von Benzoin mit o-Dinitrobenzol läßt sich ein Nachweis von Cyanid in alkalischer Lösung begründen. In Form einer Tüpfelreaktion wird eine Erfassungsgrenze von 0,01 μg Cyanid erreicht.

Der Nachweis kann in Anwesenheit von Sulfiden und von Verbindungen, die in alkalischer Lösung als Wasserstoffdonatoren fungieren (reduzierende Zucker usw.) nicht verwendet werden.

Résumé.

Il suffit de traces de cyanure pour permettre la condensation benzoïnique bien connue. En tenant compte de ce fait et en utilisant la réaction colorée sensible de la benzoïne sur l'o-dinitrobenzène, il a été possible de mettre au point un test des cyanures en solution alcaline. Mise en œuvre sous forme d'essai à la goutte, cette réaction permet d'identifier les cyanures jusqu'à la limite d'identification de 0,01 μg. Ce test ne peut être utilisé en présence de sulfures ou de tous composés fonctionnant comme donneurs d'hydrogène en solution alcaline (sucres réducteurs, etc.).

Literature Cited.

[1] *F. Feigl* and *L. Vokač*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 101.

[2] *J. Meisenheimer*, Ber. dtsch. chem. Ges. **36**, 4174 (1903); **39**, 1167 (1919).

[3] *P. K. Bose*, Z. analyt. Chem. **87**, 110 (1932).

[4] *M. Pesez* and *P. Poirier*, Methodes et reactions de l'analyse organique. Paris: 1954. pp. 7, 10, 21.

[5] *R. Kuhn* and *F. Weygand*, Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 1969 (1936).

[6] *W. Ide* and *J. S. Buck* in "Organic Reactions", Vol. IV. New York: 1948. Chapter 5.

[7] Compare [6] p. 273.

[8] *F. Feigl*, Chemistry of Specific, Selective and Sensitive Reactions. New York: Academic Press. 1949.

[9] *F. Feigl*, Z. angew. Chem. **44**, 739 (1931).

[10] *Ph. W. West*, Analyt. Chemistry **23**, 176 (1951).

[11] *F. Feigl*, Analyt. Chemistry **27**, 1315 (1955).

Laboratório da Produção Mineral, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brasilien.

Einige Verbesserungen von Nachweisen in der organischen Tüpfelanalyse.

Von

F. Feigl and **C. Stark.**

(Eingelangt am 18. August 1955.)

Bekanntlich sind Erfassungsgrenzen und Grenzverdünnungen als zahlenmäßiger Ausdruck der Empfindlichkeit von chemischen Nachweisen keine charakteristischen Konstanten der zugrunde liegenden Umsetzungen, sondern hängen von den jeweils eingehaltenen Ausführungsbedingungen, Beobachtungsart und -zeit, der Anwesenheit von Begleitstoffen usw. ab. Bei Nachweisen sog. funktioneller Gruppen in organischen Verbindungen tritt zu den genannten noch ein anderer empfindlichkeitsbestimmender Faktor hinzu, nämlich der mitunter bedeutende Einfluß des Molekülrestes auf Eintritt, Schnelligkeit und Ausmaß von chemischen Umsetzungen bestimmter Gruppen und auf die Wahrnehmbarkeit von dabei gebildeten charakteristischen Reaktionsprodukten. Dies zeigt sich daran, daß erreichbare Erfassungsgrenzen nicht nur in ihren Absolutwerten, sondern auch, bezogen auf äquimolare Mengen, von Verbindungen mit gleichen funktionellen Gruppen innerhalb weiter Grenzen schwanken können, und daß es sogar Verbindungen gibt, bei denen sonst bewährte Nachweise auf funktionelle Gruppen vollständig versagen. Die erstmalige Beschreibung solcher Nachweise berücksichtigt in der Regel Befunde an einem zahlenmäßig beschränkten Versuchsmaterial und liefert daher über den Anwendungsbereich noch kein klares Bild. Dieses wird erst gewonnen durch die Prüfung an möglichst vielen einschlägigen Objekten. Das gleiche gilt auch für die Ermittlung der Selektivität von Nachweisen auf funktionelle Gruppen und auf individuelle organische Verbindungen. Bei derartigen Prüfungen ist es naheliegend und bei der Adaptierung von Makromethoden für die Tüpfelanalyse häufig sogar unerläßlich, gegebene Arbeitsvorschriften sinngemäß abzuändern. Daß man hierbei mitunter

zu wesentlichen Verbesserungen gelangen kann, sei im Nachfolgenden an einigen Beispielen gezeigt.

I. Nachweis von Alkoholen.

Buscarons und Mitarb.[1] haben einen in seinem Chemismus sehr interessanten spezifischen Nachweis von Alkoholen beschrieben, der darauf beruht, daß Alkoholate des wasserunlöslichen schwarzgrünen Vanadiumoxinates eine rote Farbe besitzen und von anderen Lösungsmitteln dieses Oxinats nicht aufgespalten werden. Die Autoren haben empfohlen, in der auf Alkohol zu prüfenden Lösung Vanadiumoxinat zu fällen und auf das Auftreten der roten Farbe zu achten; sie haben dieses Verfahren an 20 Alkoholen überprüft und gefunden, daß es zu deren Nachweis in wäßriger Lösung und im Gemenge mit andern organischen Lösungsmitteln herangezogen werden kann. Der Nachweis wurde bisher im Makro- und Semimikromaßstab ausgeführt, im zweiten Fall unter Verwendung von etwa 0,5 ml der zu prüfenden Lösung, wobei für Äthylalkohol eine Erfassungsgrenze von 6000 μg festgestellt wurde.

Wir fanden, daß der neue Alkoholnachweis leicht in die Arbeitsweise der Tüpfelanalyse übertragbar ist und daß ein Tropfen einer Lösung oder minimale Mengen fester Alkohole geprüft werden können, wenn als Reagens eine benzolische Lösung von Vanadiumoxinat verwendet wird. Man gelangt dadurch zu einem recht empfindlichen Nachweis von primären, sekundären und tertiären Alkoholen und vieler Verbindungen mit alkoholischen Hydroxylgruppen*.

Arbeitsweise: In einer Mikroeprouvette wird ein Tropfen der Probe in Wasser, Benzol oder Toluol mit 4 Tropfen der graugrünen Reagenslösung versetzt und unter zeitweiligem Schütteln auf 60° (Wasserbad) erwärmt. Ein Farbumschlag nach rot ist nach 2 bis 8 Minuten gut wahrnehmbar. Bei kleinen Mengen Alkohol ist eine Blindprobe empfehlenswert, um geringfügige Umfärbungen zu erkennen.

Reagens:

Benzolische Lösung von Vanadiumoxinat: 1 ml einer Natriumvanadatlösung, die 1 mg Vanadium enthält, wird mit 1 ml einer 2,5%igen Lösung von 8-Oxychinolin in 6%iger Essigsäure versetzt und mit 30 ml Benzol ausgeschüttelt. Die Lösung ist etwa einen Tag haltbar.

Nach obigem Verfahren waren nachweisbar:

20 μg	Methylalkohol	500 μg	Glycerin
20 „	Äthylalkohol	5 „	Benzilalkohol

* Nach Abschluß unserer Versuche fanden wir die Mitteilung über eine ausführliche Untersuchung von *Blair* und *Pantony*[2] über die Verwendung von Vanadiumoxinat als Reagens auf Alkohole, Thiole und Amine. Die Autoren verwenden Lösungen des Oxinates in Tetrachloräthan sowie o-Dichlorbenzol bei der Prüfung des Verhaltens von 0,1-g-Mengen der genannten Verbindungen. Für Äthylalkohol fanden sie eine Erf.-Gr. von 20 μg bei Vereinigung von je 0,1 ml Probe- und Reagenslösung.

20	μg	N-Butylalkohol	10	μg	3-Nitro-4-Oxybenzylalkohol
20	„	Isopropylalkohol	3	„	Salicylalkohol (violett)
5	„	Amylalkohol	10	„	Cyklohexanol
6,5	„	Cetylalkohol	5	„	Menthol
20	„	2,4-Dichlorphenoxyäthyl-alkohol	10	„	Chloromycetin
			5	„	Borneol (orange).
100	„	Glykol			

Ein positiver Ausfall der Reaktion wurde ferner festgestellt bei: Hexylalkohol, Oktylalkohol, Methylcyklohexanol, Benzoin (in der Hitze gelb, bei Erkalten rot), Terpineol, Terpenen, Vitamin A, Vitamin D_2, Cinchonin, Sitosterolen, Tropin, Atropin sowie in unverseifbaren Rückständen von Carnaubawachs.

Keine Alkoholreaktion zeigten das in Benzol lösliche Xanthydrol sowie die Alkoholsäuren Wein-, Zitronen- und Mandelsäure.

Bei Ausführung des Testes ist zu beachten, daß Thiole und Amine unter den angegebenen Versuchsbedingungen Grün- bzw. Gelbfärbung geben, wie neuerdings von *Blair* und *Pantony*[2] festgestellt worden ist.

II. Nachweis von Chloral.

Jona[3] hat zum Nachweis von Chloral ein sehr einfaches Verfahren beschrieben, das darauf beruht, die Probelösung mit Zink und verd. Mineralsäuren zu behandeln, wobei gemäß

$$CCl_3CHO + 6\,H^\circ \rightarrow CH_3CHO + 3\,HCl$$

flüchtiger Acetaldehyd entsteht, der in der Gasphase nach Kontakt mit einer wäßrigen piperidinhaltigen Nitroprussidnatriumlösung an einer Blaufärbung (*Lewin*sche Reaktion[4]) erkannt werden kann. Dieser Nachweis soll noch in einer 1 : 20000 verd. Chloralhydratlösung gelingen, doch fehlt ein Hinweis auf das zugehörige Volumen der Probelösung. Das Verfahren ist in die Arbeitsweise der Tüpfelanalyse leicht übertragbar; es genügt die Behandlung von einem Tropfen der Probelösung mit granuliertem Zink (40 mesh) und verd. Schwefelsäure in einer Mikroeprouvette, auf deren offenes Ende ein Scheibchen Filterpapier gelegt wird, das man zuvor mit einem Tropfen einer frisch bereiteten Mischung von gleichen Teilen 5%igem Nitroprussidnatrium und 20%igem Piperidin befeuchtet. Bei Erwärmen (Wasserbad) entsteht je nach der Menge an Chloral auf dem gelben Reagenspapier innerhalb weniger Minuten ein blauer Fleck. Die Erfassungsgrenze beträgt 10 μg Chloral.

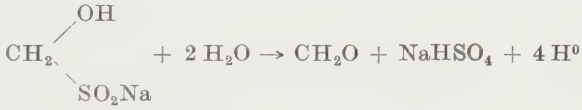
Da es sich bei der Farbreaktion des Acetaldehyds um die Umkehrung einer Nachweisreaktion für cyklische sekundäre Amine handelt[5], kann Piperidin — ohne Verminderung der Empfindlichkeit — durch das billigere Morpholin ersetzt werden.

Die Eindeutigkeit des Chloralnachweises wird durch die Anwesenheit von Acetaldehyd oder Acetaldehydbisulfit beeinträchtigt. Die Überprüfung des Verhaltens von Natriumacetat hat gezeigt, daß erst Mengen über 0,3 g dieses Salzes bei Behandlung mit Zink und Schwefelsäure eine schwache Acetaldehydreaktion zeigen.

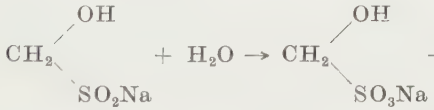
Es wurde gefunden, daß die Überführung von Chloral in Acetaldehyd durch Erwärmen mit Rongalit (weniger gut auch mit Natriumhydrosulfit) herbeigeführt werden kann. Empfehlenswert ist es, in eine Mikroeprouvette 0,05 bis 0,07 g Rongalit zu bringen, einen Tropfen Probelösung zuzusetzen und nach Auflegen eines Scheibchens des Reagenspapieres im Wasserbad zu erwärmen. Je nach der Menge an Chloral entsteht auf dem Reagenspapier innerhalb weniger Minuten ein blauer Fleck. Die Erfassungsgrenze dieses Nachweises beträgt ebenfalls 10 μg Chloral.

Die zunächst überraschende Wirksamkeit des Rongalits ist wohl darauf zurückzuführen, daß diese Verbindung und auch Natriumhydrosulfit als Wasserstoffdonatoren fungieren können, worauf sich unter Verwendung von o-Dinitrobenzol als Reagens ein empfindlicher Nachweis dieser beiden Verbindungen des zweiwertigen Schwefels hat begründen lassen[6].

Für die Wasserstoffabgabe aus Rongalit (bei Gegenwart geeigneter Akzeptoren für Wasserstoff) kommen nachstehende Gleichungen in Betracht



oder



Bisher konnten keine anderen organischen Halogenverbindungen gefunden werden, bei denen durch Erwärmen mit Rongalit ein Austausch von Halogen- gegen Wasserstoffatome erfolgt.

III. Nachweis von Salicylalkohol.

Für den Nachweis dieses Alkohols ist folgendes Verfahren beschrieben worden[7]: Ein Tropfen der Probelösung wird mit Chromschwefelsäure erwärmt und der dabei gebildete Salicylaldehyd in der Gasphase mit Hydrazinacetatpapier in Kontakt gebracht; es entsteht hierbei gelbgrün fluoreszierendes Salicylaldazin. Obwohl dieser selektive Nachweis von Salicylaldehyd[8] sehr empfindlich ist, gestattet obige Arbeitsweise lediglich den Nachweis von 25 μg Salicylalkohol, was wahrscheinlich darauf

zurückzuführen ist, daß eine Weiteroxydation des zunächst gebildeten Salicylaldehyds zu Salicylsäure erfolgt.

Eine weitaus größere Empfindlichkeit wird bei Erwärmen mit Braunstein erreicht, wobei es sich um eine topochemische Redoxreaktion mit geschmolzenem Salicylaldehyd handeln dürfte.

Arbeitsweise: 1 Tropfen der alkoholischen Probelösung wird in eine Mikroeprouvette gebracht, einige cg Mangandioxydpaste zugesetzt und auf das offene Ende ein Scheibchen von mit Hydrazinlösung befeuchtetem Filterpapier gelegt. Die Eprouvette wird für 5 Minuten in ein auf 240 bis 250° erwärmtes Ölbad getaucht. Bei Anwesenheit von Salicylalkohol entsteht auf dem Filterpapier ein im UV-Licht gelbgrün fluoreszierender Fleck.

Erfassungsgrenze: 0,5 μg Salicylalkohol.

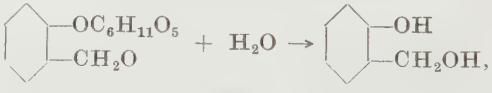
Reagenzien:

1. *Feuchtes Mangandioxyd*, hergestellt durch Erwärmen von Mangansalzlösung mit Alkalihypobromit.

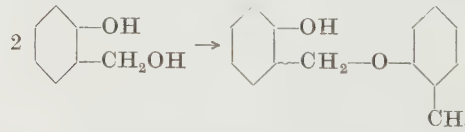
2. *Hydrazinacetatlösung:* 10 g Hydrazinsulfat und 10 g Natriumacetat auf 100 ml Wasser.

IV. Nachweis von Salicin.

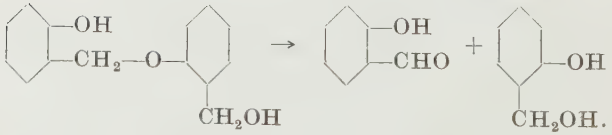
Zum Nachweis dieses Glukosides des Salicylalkohols wurde ein Verfahren beschrieben[9], das darauf beruht, daß bei trockenem Erhitzen Salicylaldehyd abgespalten wird, der durch die Bildung des gelbgrün fluoreszierenden Salicylaldazins empfindlich nachweisbar ist. Die Bildung von Salicylaldehyd als pyrolytisches Spaltprodukt beruht wahrscheinlich auf dem Eintritt folgender Teilreaktionen: Es entsteht zunächst durch Karamelisierung des Zuckers Wasser, das als überhitzter Wasserdampf die Hydrolyse der Glukoside unter Bildung von Salicylalkohol herbeiführt (1). Dieser Alkohol kondensiert bei 240° unter Bildung von Saliretrin[10] (2). Letzteres disproportioniert gemäß (3) unter Bildung von Benzilalkohol und Salicylaldehyd:



(1)



(2)



(3)

Die Erfassungsgrenze des Nachweises von Salicin durch pyrolytische Abspaltung von Salicylaldehyd wurde bisher nicht bestimmt, sondern

lediglich angegeben, daß mg-Mengen des Glukosides nachweisbar sind. Es war naheliegend anzunehmen, daß das unter III beschriebene Verfahren der Überführung von Salicylalkohol in Salicylaldehyd durch feuchtes Mangandioxyd auch für den Nachweis des aus dem Glukosid hydrolytisch abgespaltenen Salicylalkohols anwendbar ist. Dies ist auch tatsächlich der Fall und es sind bei Einhaltung der unter III beschriebenen Arbeitsweise in einem Tropfen der wäßrigen Lösung noch 3 μg Salicin einwandfrei nachweisbar.

V. Nachweis von Sulfoxylatverbindungen.

Ein Nachweis von Sulfoxylatverbindungen läßt sich darauf begründen[11], daß bei Erwärmen mit konz. Schwefelsäure durch hydrolytische Aufspaltung Formaldehyd entsteht, der durch die *Eegriwe*sche Farbreaktion[12] mit Chromotropschwefelsäure (Violettfärbung) erkennbar ist. Dieser Nachweis von Sulfoxylatverbindungen hat den Nachteil, daß andere formaldehydabspaltende Verbindungen (Hexamethylentetramin und dessen Salze, Glykolsäure, Pyramidon, Miosalvarsan etc.) in gleicher Weise reagieren.

Es wurde gefunden, daß Verbindungen, die die $NHCH_2SO_2Na$-Gruppe enthalten, bei trockenem Erhitzen Schwefelwasserstoff abspalten, der mit Bleiacetatpapier empfindlich nachweisbar ist. Dieser Effekt dürfte darauf beruhen, daß bei der Pyrolyse von Sulfoxylatverbindungen gemäß

$$R—NHCH_2SO_2Na + H_2O \rightarrow R—NH_2 + CH_2O + NaHSO_2$$

bzw.

$$R—NHCH_2SO_2Na \rightarrow R—N=CH_2 + NaHSO_2$$

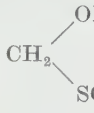
Natriumsulfoxylat entsteht. Von Formaldehydsulfoxylat ist bekannt[13], daß es bei Erwärmen über 125° Schwefelwasserstoff abgibt, worauf sich ein Nachweis von Rongalit und dessen Unterscheidung von Hydrosulfat begründen läßt[14]. Die Schwefelwasserstoffabspaltung beruht auf dem thermischen Zerfall gemäß

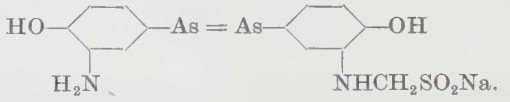
$$2\,NaHSO_2 \rightarrow Na_2SO_4 + H_2S,$$

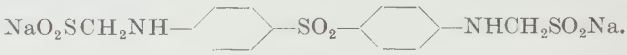
der offenbar bei allen organischen Derivaten des Natriumsulfoxylates erfolgt.

Arbeitsweise: Eine kleine Menge der festen Probe wird in eine Mikroeprouvette gebracht, auf deren offenes Ende ein Scheibchen feuchtes Bleiacetatpapier gelegt wird. Die Eprouvette wird in ein auf 250° geheiztes Glycerinbad eingehängt und auf 270 bis 280° erhitzt. Der positive Ausfall des Tests ist an der Bildung eines schwarzen oder braunen Fleckes von Bleisulfid auf dem weißen Reagenspapier erkennbar.

Die Erfassungsgrenze des Nachweises kann nicht bestimmt werden, weil bei Eindampfen von Sulfoxylatverbindungen Oxydation der $—CH_2SO_2Na$-Gruppe zur $—CH_2SO_3Na$-Gruppe erfolgt, die bei der Pyrolyse keinen Schwefelwasserstoff abgibt. Mengen von etwa 0,3 mg der unten angeführten Verbindungen zeigen deutliche Reaktion.

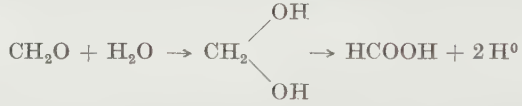
Rongalit 

Neosalvarsan 

Sulfoxon-Natrium 

VI. Nachweis reduzierender organischer Verbindungen.

Zur Vorprüfung auf organische Verbindungen, die in alkalischer Lösung als Wasserstoffdonatoren fungieren, ist deren Einwirkung auf o-Dinitrobenzol empfohlen worden[15], die zu violetten Alkalisalzen der o-chinoiden Nitrol-Nitrosäure führt. Es hat sich gezeigt, daß die Angabe, wonach Aldehyde nicht reagieren, nur beschränkte Gültigkeit hat. Beispielsweise reagiert Formaldehyd in ätzalkalischer Lösung merklich, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß auch dieser Aldehyd gemäß



als Wasserstoffdonator fungieren kann. Dies ist bereits von *Bose*[16] festgestellt worden, der darauf hingewiesen hat, daß Formaldehyd mit o-Dinitrobenzol in sodaalkalischer Lösung nicht reagiert.

Man kann den Nachweis reduzierender organischer Verbindungen, die als Wasserstoffdonatoren fungieren, dadurch verbessern, daß man statt in ätzalkalischer in sodaalkalischer Lösung arbeitet und statt einer gesättigten alkoholischen eine 5%ige benzolische Lösung von o-Dinitrobenzol verwendet. Unter diesen Bedingungen wird nach Verdampfen des Benzols eine 0,4%ige wäßrige Lösung des Dinitrobenzols erhalten, die mit großen Mengen Formaldehyd erst nach 4 bis 5 Minuten Erwärmen unter Violettfärbung reagiert. Vor Ablauf dieser Zeit reagieren sämtliche reduzierende Zucker und sonstige organische Verbindungen, die als Wasserstoffdonatoren fungieren. Die Empfindlichkeit des Verfahrens beträgt die Hälfte bis ein Viertel der früher angegebenen Werte.

Wir danken an dieser Stelle dem Conselho Nacional de Pesquisas für seine Unterstützung bei Durchführung dieser Arbeit.

Zusammenfassung.

Es werden Verbesserungen von Nachweisen von Alkoholen, Chloral, Salicylalkohol, Salicin, Sulfoxylatverbindungen und bestimmten reduzierenden organischen Verbindungen beschrieben, durch die man zu mikroanalytischer Empfindlichkeit und zum Teil auch zu erhöhter Selektivität gelangt.

Summary.

Improvements of tests for alcohols, chloral, salicylalcohol, salicine, sulfoxylate compounds and certain reducing organic compounds are described, which lead to microanalytical sensibility and sometimes also to enhanced selectivity.

Résumé.

On décrit des améliorations des méthodes d'identification des alcools, du chloral, de l'alcool salicylique, de la salicine, de composés sulfoxyliques et de combinaisons organiques réductrices définies. Elles atteignent une sensibilité microanalytique et leur sélectivité est parfois accrue.

Literatur.

[1] *F. Buscarons, J. Marin* und *J. Claver*, Analyt. Chim. Acta **3**, 310, 417 (1949).
[2] *A. J. Blair* und *D. A. Pantony*, Analyt. Chim. Acta **13**, 1 (1955).
[3] *T. Jona*, Z. analyt. Chem. **52**, 230 (1913).
[4] *L. Lewin*, Ber. dtsch. chem. Ges. **32**, 3388 (1944).
[5] *F. Feigl* und *V. Anger*, Mikrochim. Acta **1**, 138 (1937).
[6] *F. Feigl* und *L. Hainberger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 105.
[7] *F. Feigl*, Spot Tests, Bd. II, 4. Aufl. New York: Elsevier. 1954. S. 270.
[8] *F. Feigl*, op. cit., S. 158.
[9] *F. Feigl*, op. cit., S. 364.
[10] *H. Schiff*, Ber. dtsch. chem. Ges. **14**, 304 (1881).
[11] *F. Feigl* und *E. Silva*, Drug Standards **23**, 113 (1955).
[12] *E. Eegriwe*, Z. analyt. Chem. **110**, 22 (1937).
[13] *G. Panizzon*, Meliand's Textilber. **12**, 119 (1931).
[14] *F. Feigl* und *Cl. Costa Neto*, Chemist-Analyst 1955, im Druck.
[15] *F. Feigl* und *L. Vokač*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 101.
[16] *P. K. Bose*, Z. analyt. Chem. **87**, 110 (1932).

Laboratório da Produção Mineral, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brazil.

Spot Test Detection of Inositol.

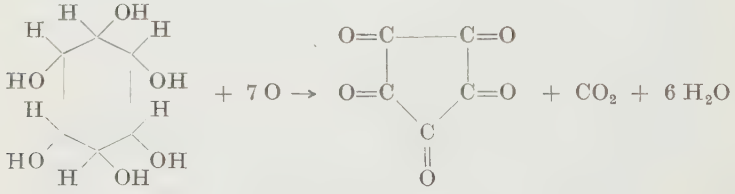
By

F. Feigl and **V. Gentil.**

(Translated by *R. E. Oesper*, University of Cincinnati.)

(Received September 4, 1955.)

Procedures have been described for the micro detection of inositol (cyclohexane-hexol) which are based on the formation of characteristically-reacting products when this compound is warmed with concentrated nitric acid. According to *Gelormini* and *Artz*[1], leuconic acid is the end product of the oxidation:



with intermediate formation of first hexahydrobenzene followed by the polyketones: tetrahydroxyquinone, rhodizonic acid, triquinoyl and croconic acid. It is likely that a mixture of leuconic acid with varying amounts of these ketonic compounds is obtained, i. e., compounds which are acidic per se or acquire acid properties by hydration.

Like several authors before him[2], *Denigès*[3] employed the acidic compounds formed from inositol for its detection, taking advantage of their ability to produce red alkali earth salts. In addition he employed the redox reactions with Fehlings, Tollens, and Nessler reagents. With reference to the former, *Fleury* and *Balatre* state[4]: "Inositol could be exclusively characterized by its transformation into saline quinonic derivatives under technical conditions which are still very difficult to define." The second procedure seems to have attracted but little attention

heretofore, because it is not applicable in the presence of reducing sugars, which is usually the case.

There are no reports of the sensitivity of the two procedures recommended by *Denigès*. *Salkowski*[5] used the color reaction discovered by *Scherrer*[6] and improved this reaction with calcium salts of the keto compounds formed from inositol. *Salkowski* reported that 100 μg inositol can be detected in this manner. Since our studies showed that the spot reaction for rhodizonic acid through formation of colored barium (calcium) salts has an identification limit of 0,1 μg. and since sensitivities of the same order of magnitude could be expected for other acidic ketonic compounds, the detection of inositol through quantitative transformation into keto compounds could be anticipated to possess identification limit of around 1 μg. Consequently, the attainment of a more favorable sensitivity required that the oxidation with nitric acid be so directed that losses because of incomplete oxidation or excessive oxidation to oxalic acid be kept to a minimum. Numerous trials eventually showed that a single evaporation with nitric acid (sp. gr. 1,4) is sufficient, provided small amounts of inositol are involved. When the evaporation residues are then treated with calcium chloride and ammonia, and again taken to dryness, and subsequently heated to 180–190°, the residues are distinctly red.

It was found possible to simplify materially the *Denigès* procedure in which the residue obtained by evaporating insositol with concentrated nitric acid is warmed with Tollens reagent. Metallic silver results. We have found that if an aqueous solution of inositol is treated with silver nitrate, evaporated to dryness, and the residue heated to 150°, metallic silver is left. This result probably is due to nitric acid liberated by hydrolysis which oxidizes inositol to keto compounds, which in their turn are reduced by silver ions with separation of metallic silver. Consequently, we are dealing here with the interesting case in which both the anionic and cationic component of silver nitrate are involved in redox reactions.

Application of these observations has led to the development of two spot reaction procedures for detecting insositol.

Procedure I: A spot plate is used. One drop of the aqueous test solution is mixed with a drop of nitric acid (sp. gr. 1,4) and taken to dryness. The residue is treated with one drop of 5% calcium chloride solution and one drop of concentrated ammonia (sp. gr. 0,9). The spot plate is then placed in an oven at 180° or heated on a block or hot plate. According to the amount of inositol present, a red or brown-red color develops at once or within 5–10 minutes at most. A blank test is needed only if the amount of inositol is in the neighborhood of the identification limit.

Identification limit: 2.5 μg inositol.

Dilution limit: 1 : 20000.

The test is strictly specific for inositol but reducing sugars in great amounts must be absent. They caramelize when heated to 180° and the resulting yellow makes it difficult to see the pink due to the inositol. However, there was no difficulty in detecting 10 μg inositol in the presence of 1000 μg glucose.

Procedure II: A drop of the test solution is mixed with a drop of 5% silver nitrate solution in a depression of a spot plate. The mixture is taken to dryness in the dark and the residue is kept at 150° for 5–10 minutes. According to the quantity of inositol present, the residue on the plate is black or grey.

Identification limit: 0.05 μg inositol.

Dilution limit: 1 : 1000000.

The test involving evaporation with silver nitrate may not be used when reducing sugars are present since they too lead to the deposition of metallic silver.

Another test for inositol is interesting in this connection[7]. It involves evaporation with concentrated nitric acid and the catalysis by the resulting polyketones of the color reaction (violet) between formaldehyde and 1,2-dinitrobenzene. Any interference by reducing sugars in this new test for 1,2-diketones, and *o*- and *p*-quinones (such sugars react directly with 1,2-dinitrobenzene[8]) can be avoided by preliminary warming with alkali hypobromite.

Acknowledgement.

We acknowledge with thanks the support of this study by the Conselho Nacional de Pesquisas.

Summary.

A specific test for inositol is based on the fact that the residue obtained by evaporating the sample once with concentrated nitric acid contains acidic keto compounds which yield a red product when evaporated with calcium chloride and ammonia and then heated to 180°.

If an inositol solution containing silver nitrate is taken to dryness and then heated to 150°, metallic silver is deposited. This test for inositol cannot be employed if reducing sugars are also present.

These two tests can be conducted within the technique of spot test analysis. The respective identification limits are: 2.5 μg and 0.05 μg.

Zusammenfassung.

Ein spezifischer Nachweis von Inosit kann darauf begründet werden, daß nach einmaligem Abdampfen mit konz. Salpetersäure ein Rückstand von sauren Ketoverbindungen hinterbleibt, der nach Abdampfen mit Calciumchlorid und Ammoniak und Erhitzen auf 180° ein rotes Produkt bildet.

Wird eine silbernitrathaltige Inositlösung zur Trockne verdampft und dann auf 150° erhitzt, so erfolgt Abscheidung von metallischem Silber. Diese Redoxreaktion kann bei Anwesenheit von reduzierenden Zuckern nicht zum Nachweis von Inosit verwendet werden.

Die beiden hier beschriebenen Nachweise sind in der Technik der Tüpfelanalyse ausführbar und besitzen Erfassungsgrenzen von 2,5 μg bzw. 0,05 μg Inosit.

Résumé.

On a mis au point un test spécifique de l'inositol fondé sur les observations suivantes: en évaporant une fois l'échantillon en présence d'acide nitrique concentré on obtient un résidu contenant des composés cétoniques acides qui, par évaporation en présence de chlorure de calcium et d'ammoniaque suivie d'un chauffage à 180°, donnent naissance à un produit rouge. Si l'on évapore jusqu'à siccité une solution d'inositol contenant du nitrate d'argent et si l'on chauffe ensuite à 150°, il se forme un dépôt d'argent métallique. Ce test de l'inositol ne peut être utilisé en présence de sucres réducteurs. Ces deux tests peuvent être effectués dans le cadre de la technique des essais à la touche; les quantités limites qu'ils permettent d'identifier sont respectivement de 2,5 μg et 0,05 μg.

References Cited.

[1] *O. Gelormini* and *N. E. Artz*, J. Amer. Chem. Soc. **52**, 2483 (1930).
[2] Compare *P. Fleury* and *P. Balatre*, Les Inositols. Paris: 1947. Chapter IV.
[3] *P. Denigès, L. Chelle* and *A. Labat*, Precis de chimie analytique, 7th ed. Vol. I. Paris: 1930. p. 208.
[4] *P. Fleury* and *P. Balatre*, l. c. p. 32.
[5] *E. Salkowski*, Z. physiol. Chem. **69**, 478 (1910).
[6] *J. Scherrer*, Ann. Chem. **81**, 375 (1852).
[7] *F. Feigl* and *Cl. Costa Neto*, Analyt. Chemistry (submitted for publication).
[8] *F. Feigl* and *L. Vokač*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 101.

Aus dem Chemischen Laboratorium der Bundesanstalt für Pflanzenschutz in Wien.

Über eine Mikroapparatur zum Nachweis von Fluorwasserstoffsäure.

Von

Paul Reckendorfer.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 12. September 1955.)

Zur Durchführung des mikrochemischen Nachweises von Fluorwasserstoffsäure hat sich ein kleiner Apparat als sehr brauchbar erwiesen, der schon seinerzeit von *Feigl*[1] für das Auffangen kleiner Gasmengen durch Flüssigkeitströpfchen eingehend beschrieben wurde. Es handelt sich dabei um eine kleine, etwa 1 ml fassende Glashülse, die mit einem eingeschliffenen Aufsatzstück verschlossen ist. Daran befindet sich ein Glasknopf, der zum Aufbringen der Reagenslösung dient. In der Glashülse wird aus der Probe das nachzuweisende Gas eventuell unter Erwärmen entwickelt und in dem am Glasknopf hängenden Reagenstropfen aufgefangen. Die mit einem Schliffverschluß luftdicht abgeschlossene Apparatur läßt kein Gas entweichen, so daß dieses bei entsprechend langer Einwirkung vom Flüssigkeitstropfen quantitativ aufgenommen wird.

Der Nachweis löslicher und unlöslicher Fluoride bzw. von Fluorwasserstoffsäure durch Überführung in Siliciumtetrafluorid und dessen Verseifung unter Bildung von Kiesel- und Kieselfluorwasserstoffsäure würde sich also nach *Feigl* und *Krumholz*[2] derart gestalten, daß die in der Glashülse befindliche und mit reinstem Quarzsand vermischte Probe mit 1 bis 2 Tropfen konz. Schwefelsäure durchfeuchtet, das eingeschliffene Aufsatzstück mit einem daranhängenden Wassertropfen aufgesetzt, zunächst zirka 1 Minute gelinde erwärmt und dann nach Entfernung der Flamme noch 3 bis 5 Minuten stehengelassen wird. Hierauf wird der am Glasknopf des Verschlußstückes hängende Tropfen in einen Mikrotiegel gespült; sodann werden 1 bis 2 Tropfen einer salpetersauren

Ammoniummolybdatlösung hinzugefügt und schließlich wird bis zum beginnenden Blasenwerfen erhitzt. Nach völligem Erkalten werden 1 Tropfen einer essigsauren Benzidinlösung und einige Tropfen einer gesättigten Natriumacetatlösung zugesetzt. Das Auftreten einer Blaufärbung zeigt die Anwesenheit von Kieselsäure und demnach das Vorliegen von Fluor an.

Ich konnte nun bei der Durchführung dieses Nachweises von Fluorwasserstoffsäure die Erfahrung machen, daß die Zweckmäßigkeit der von *Feigl* und *Krumholz*[2] entworfenen Mikroapparatur unter bestimmten Umständen sehr beeinträchtigt werden kann. Das Einführen des mit einem Glasknopf versehenen Aufsatzstückes bzw. eines an diesem Glasknopf hängenden Wassertropfens in den Bereich der Glashülse ist nämlich nicht immer ganz einfach, zumal es bei einem weniger präzisen Aufsetzen des Verschlußstückes auf die bereits mit Analysengut versorgte Glashülse leicht zu einem mehr oder minder vollständigen Abgleiten des Wassertropfens und damit zu einer Benetzung der Wände des Gasentwicklungsraumes kommen kann, wodurch die dem hängenden Wassertropfen bei genügend langer Einwirkung des Siliciumtetrafluorides primär zugedachte Rolle einer lokalisierten quantitativen Verseifung nicht mehr gegeben ist. Eine ähnliche Situation würde auch dann eintreten, wenn es im Verlauf der bereits in Gang befindlichen Analyse infolge unvorhergesehen schwankender Temperatur bzw. infolge einer Störung der den Wassertropfen fixierenden Adhäsions- und Kohäsionskräfte zu dessen Abreißen und damit zum Verlust der Probe bzw. der Einwaage kommen sollte. Ich war daher bestrebt, diesem Übelstande durch eine zweckentsprechende Abänderung des Apparates abzuhelfen. Die von mir entwickelte Mikroapparatur würde sich demnach wie folgt präsentieren: Eine kleine, in ihrer räumlichen Ausladung sowohl der Menge des Probegutes als auch den Erfordernissen der Erfassungsgrenze von 1 μg Fluor entsprechende Glashülse ist an ihrem oberen Ende mit einem eingeschliffenen Aufsatzstück verschlossen (Abb.). Daran befindet sich, in den Bereich der Glashülse hineinragend, ein Glasknopf, der in seinem oberen Anteil in diametraler Anordnung zwei kapillare Öffnungen aufweist, die untereinander durch einen dem oberen Teil des Verschlußstückes zustrebenden kapillaren Gang verbunden sind. Die über das Aufsatzstück hinausragende Kapillare ist in ihrer Hälfte durch einen Mikrohahn verschließbar. Über das olivenartige Abschlußende der Kapillare wird eine kleine Kautschukkappe gezogen, die ein Aufsaugen

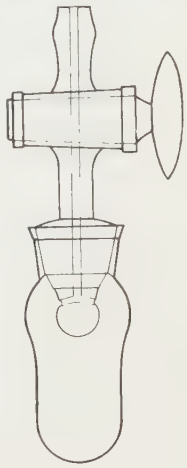


Abb. 1.

und Hinausdrücken von Flüssigkeit gestattet. Die sinngemäße Anwendung der Apparatur ergibt sich nunmehr von selbst. Die Handhabung ist überaus einfach. Zunächst wird das Aufsatzstück bei geöffnetem Glashahn mit seinem Glasknopf in reinstes Wasser eben so weit eingetaucht, daß die kapillaren Öffnungen gerade noch unter der Niveaufläche zu liegen kommen. Durch Zusammendrücken der Kautschukkappe entweicht die in der Kappe und im Kapillarraum befindliche Luft, so daß sich beim Lösen des Druckes Kapillare und Kappenraum mit Wasser füllen. Jetzt wird der Mikrohahn geschlossen. Nach dem Herausziehen des Aufsatzstückes aus dem Wasser wird der am Glasknopf hängende Tropfen durch gelindes Abschlagen entfernt. Das nunmehr adjustierte Verschlußstück wird auf die bereits beschickte Glashülse aufgesetzt. Durch mäßiges Quetschen der Kautschukkappe bei gleichzeitig vorsichtigem Öffnen bzw. Schließen des Glashahnes tritt aus den kapillaren Öffnungen ein Wassertropfen *beliebiger Größe*. Nach vollendeter Verseifung und vorsichtiger Abnahme des Aufsatzstückes wird der hängende Tropfen durch Nachfließen des Wassers aus der Kapillare und durch Nachwaschen des Glasknopfes quantitativ in einen Mikrotiegel gespült und nach *Feigl* und *Krumholz*[2] weiterbehandelt. Die Zweckmäßigkeit dieser apparativen Anordnung ist klar ersichtlich. Die ganze Manipulation der *variablen Tropfenbildung* ist bei bereits verschlossener Apparatur möglich und ein während der Analyse herabfallender Tropfen macht keine Wiederholung der Einwaage erforderlich, zumal bei sofort neuentwickelter Tropfenbildung der Reaktionsablauf ohne Verlust der Probe noch einmal einsetzen kann. Da der Glasknopf an seiner unter den kapillaren Öffnungen gelegenen Kuppe angeätzt ist, scheint auch das Hängenbleiben des Wassertropfens weitestgehend gewährleistet. Die aus Jenaer Glas hergestellte Apparatur hat sich bestens bewährt*.

Zusammenfassung.

Die Abänderung einer seinerzeit von *Feigl* und *Krumholz* entwickelten Mikro-Apparatur zum Nachweis von Fluorwasserstoffsäure wird beschrieben. Der modifizierte Apparat gibt die Möglichkeit, auf dem mit kapillaren Öffnungen versehenen Glasknopf des Verschlußstückes einen Wassertropfen zu erzeugen, der in beliebiger Größe hängend dargestellt werden kann. Die variable Tropfenbildung ist bei bereits verschlossener Apparatur möglich und ein während des Analysenganges herabfallender Tropfen macht bei sofort neuentwickelter Tropfenbildung keine Wiederholung der Einwaage erforderlich.

---

* Die Apparatur kann bei der Firma Paul Haack, Wien IX, Garnisongasse 3, bezogen werden.

Summary.

A description is given of the modification of the apparatus developed by *Feigl* and *Krumholz* for the detection of hydrogen fluoride. The modified apparatus provides the possibility of producing a drop of water of any desired size on the glass knob of the stopper which is provided with capillary openings. The variable formation of a hanging drop is possible even when the apparatus is closed and should the drops fall off during the analysis, it is not necessary to weigh out a new sample since the drop can be renewed at once.

Résumé.

On décrit une modification du micro-appareil qui a été mis au point par *Feigl* et *Krumholz* pour l'identification de l'acide fluorhydrique. L'appareil modifié donne la possibilité de produire une goutte d'eau pendante de grosseur variable sur l'embout de verre du dispositif de fermeture qui est pourvu d'ouvertures capillaires. Il est possible de former la goutte dans l'appareil clos de sorte que sa chute en cours d'analyse ne nécessite pas une nouvelle prise d'essai car elle est suivie de la formation immédiate d'une nouvelle goutte.

Literatur.

[1] *F. Feigl*, Spot Tests. 4. Aufl., Bd. I. Amsterdam: Elsevier. 1954. S. 45.
[2] *F. Feigl* und *P. Krumholz*, Mikrochem., Pregl-Festschrift 83 (1929).

Research Department, British Nylon Spinners Ltd., Pontypool, Monmouthshire.

Determination of Nitrogen by the Method of Kirsten.

By

S. J. Clark and **B. Dando.**

With 1 Figure.

(Received August 10, 1955.)

The method of *Kirsten*[1] for the determination of nitrogen has given excellent results, in our hands, for a wide range of compounds, but considerable trouble has been experienced with the apparatus owing to the short life of the silica combustion tubes. After about twenty determinations, the tubes have invariably shattered near the entrance to the main furnace, at the position occupied by the Inconel capsule

Table I.

Compound	Sample Weight (mg)	% Nitrogen	
		Theory	Found
m-Dinitrobenzene	3.651	16.67	16.57
	3.860	,,	16.55
	3.600	,,	16.71
Acetanilide	3.460	10.36	10.38
	3.413	,,	10.35
Diamino-dimethylene-dulcitol picrate	3.050	16.92	16.83
	3.353	,,	16.82
Sulphanilic acid	3.050	8.09	8.00
S-benzyl-iso-thiourea hydrochloride	3.515	13.82	13.84
Atropine	3.475	4.84	4.80
Phenacetin	3.422	7.82	7.79
1:6-Diphthalimido-1:6-didesoxy-2:3:4:5-di-o-methylene dulcitol	3.662	6.04	5.98
	3.480	,,	6.00
66 Nylon	3.700	12.37	12.38

containing the temporary filling. The tubes showed evidence of severe chemical attack, at and around the fracture, which appeared to be caused by the capsule.

The reason for using a temporary filling has never been apparent to us, when the combustion is effected in an atmosphere of carbon dioxide, and, accordingly, experiments were made in which the capsule was omitted. Results showed that the combustion tube life was thus greatly increased and that the accuracy and precision of the method were unimpaired. The results of a series of analyses are given in Table I.

Extremely high results were obtained at the end of a series of analyses of silver nitrate (Table II). However, good results were obtained for compounds containing hydrogen immediately after these erroneous results. It is assumed that sufficient hydrogen is provided by normal compounds to maintain sufficient reducing agent (i. e. nickel) in the filling, but that this becomes exhausted when several samples of a compound containing no hydrogen are burned.

Table II.

Compound	Sample Weight (mg)	% Nitrogen	
		Theory	Found
Silver nitrate	4.301	8.24	8.30
	8.439	„	8.19
	9.654	„	8.18
	8.430	„	8.47
	10.122	„	13.42
Phenacetin	3.616	7.82	7.91
Ethyl nitrolic acid	3.389	26.92	27.13
Glutarimide	3.066	12.35	12.45
p-Dimethylamino-benzaldehyde	3.329	9.39	9.46
	3.628	„	9.38

Considerable difficulty has been experienced in obtaining replacement tubes to *Kirsten*'s design and a simplified combustion tube is now used. The tube is identical to that employed in carbon and hydrogen determinations[2] except that the body of the tube has been lengthened. The life of such a tube is reasonably good, but a further improvement is obtained if the wall thickness is increased to 2.5 mm.

The apparatus has been further simplified by using only one nitrometer and by discarding the reverse sweeping system. It has been found that micro-bubbles are obtained after 2–3 minutes by sweeping out directly. The air and absorption blank is negligible.

Method.

Apparatus.*

Combustion tube and filling.

The combustion tube is constructed from transparent silica to the dimensions given in Fig. 1. The filling is identical with that described by *Kirsten* except that the temporary filling is omitted.

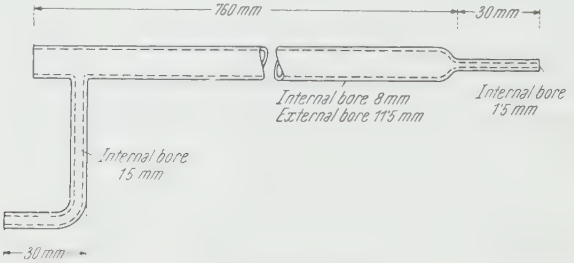


Fig. 1. Combustion Tube.

Furnaces.

The furnaces and drive mechanism supplied with the original apparatus have been retained. The furnaces have been described by *Kirsten*[3].

Carbon dioxide generator.

Carbon dioxide is supplied by a *Tucker* generator[4], attached to the side-arm of the combustion tube.

Nitrometer.

A *Müller* nitrometer[5] is used, connected to the combustion tube via a tail stopcock.

Reagents.

The nickel oxide reagent is prepared by the method of *Kirsten*.

Procedure.

The mouth of the combustion tube is closed by a rubber stopper and a fast stream of carbon dioxide is passed through the apparatus, the gas escaping through the tail stopcock. The furnaces are switched on and allowed to reach their correct operating temperatures. Meanwhile, a sample is weighed in a platinum boat. When micro-bubbles are obtained in the nitrometer, the boat containing the sample is inserted into the combustion tube and pushed to a point 100 mm from the main furnace. The mouth of the combustion tube is closed and carbon dioxide is passed through the apparatus until micro-bubbles are once more obtained.

The nitrometer is refilled and the gas flow rate adjusted, using the tail stopcock, so that 1–2 bubbles per second rise in the nitrometer.

* The original apparatus was supplied by P. A. Norstedt & Söner, Stockholm.

The movable furnace is pulled into position round the combustion tube and the automatic drive is switched on. During the combustion, the next sample is weighed out. At the end of the combustion, which should take about 15 minutes, the movable furnace is pushed clear of the combustion tube and returned to its starting position. When microbubbles are once more obtained, the nitrometer is isolated by rotating the tail stopcock through 90° so that the combustion tube is now connected to atmosphere. The boat is removed from the combustion tube and the next sample is inserted. After the apparatus has been swept free from air, the volume of gas in the nitrometer is recorded and the apparatus is ready for the next combustion to be started. A complete determination requires 30–35 minutes.

Once the apparatus has been brought into operation, the furnaces remain switched on permanently so as to avoid thermal strain on the combustion tube through repeated heating and cooling.

Acknowledgement.

Thanks are due to British Nylon Spinners Ltd., for permission to publish this note.

Summary.

Experience with the *Kirsten* method for the determination of nitrogen has shown that improved performance is obtained by omitting the temporary filling. A modified method is described which is simpler than the original, but which gives results of equal accuracy and precision.

Zusammenfassung.

Erfahrungen mit der Methode von *Kirsten* zur Bestimmung des Stickstoffs haben gezeigt, daß es besser ist, auf die bewegliche Füllung des Verbrennungsrohres zu verzichten. Eine abgeänderte Methode wird beschrieben, die einfacher ist als das ursprüngliche Verfahren, wobei aber die gleiche Genauigkeit erzielt wird.

Résumé.

L'expérience avec la méthode de *Kirsten* pour la détermination de l'azote a avéré que le rendement est amélioré si la charge temporaire est supprimée. Une méthode modifiée a été décrite; elle est plus simple que la méthode originale tout en donnant des résultats aussi exacts.

References.

[1] *W. Kirsten*, Mikrochem. **40**, 121 (1953).
[2] British Standard 1428: Part A 1: 1950.
[3] *W. Kirsten*, Analyt. Chemistry **25**, 805 (1953).
[4] *S. H. Tucker*, Analyst **64**, 410 (1939); **67**, 320 (1942); **75**, 888 (1950); **79**, 55 (1954); Chem. and Ind. **1945**, 270.
[5] *A. Müller*, Mikrochem. **33**, 192 (1948).

Aus dem Laboratorium der pharm.-chem. Fabrik A. v. Waldheim, Wien

Zur Analytik von Lumi-Mutterkornalkaloiden.

Von

M. Pöhm.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 30. Juli 1955.)

Die Tatsache, daß Mutterkornalkaloide sehr lichtempfindlich sind und deshalb vor Licht geschützt werden müssen, ist schon lange bekannt. Wir haben diese Schädigungen durch Lichteinfluß analytisch mit Hilfe der *van Urk*schen Farbreaktion (p-Dimethylaminobenzaldehyd in Schwefelsäure; Reagens der Brit. Ph.) verfolgt und konnten dabei feststellen, daß sich die Absorptionsspektren der gebildeten Farbsalzlösungen[1,2] in charakteristischer Weise verändern, und zwar tritt eine allmähliche Angleichung an das Absorptionsspektrum der Dihydrolysergsäure-Farbsalze[2,3] ein. Wir schlossen daraus, daß durch Lichteinwirkung die zum Indolring in Allyl-Stellung befindliche Doppelbindung im Lysergsäuremolekül angegriffen wird. Während unsere Versuche zur Aufklärung dieser Lichtreaktion noch im Gange waren, haben *Stoll* und *Schlientz*[4] kürzlich die Isolierung der Belichtungsprodukte des Ergotamins und deren Konstitution bekanntgegeben. Es tritt hierbei eine Wasseranlagerung an die Doppelbindung ein; da hierdurch ein neues Asymmetriezentrum geschaffen wird, werden zwei Reaktionsprodukte erhalten, die Lumi-Ergotamin I und II genannt wurden.

Wir haben nun die Lumi-Ergotamine nach den Angaben der genannten Autoren hergestellt und die Absorptionskurve der mit p-Dimethylaminobenzaldehyd erhaltenen Farbsalzlösung gemessen (s. Abb. 1); die mit Lumi-Ergotamin II erhaltene Kurve stimmt mit der des Lumi-Ergotamins I vollständig überein. Bei 586 mμ zeigt die Lysergsäurekurve ein deutliches Minimum, während die Lumi-Lysergsäurekurve bei der gleichen Wellenlänge ihr Maximum aufweist. Nach dem von uns aufgeklärtem Reaktionsmechanismus der Lysergsäure mit aromatischen Aldehyden[2] vermindert sich die Zahl der konjugierten Doppelbindungen im Farbsalz durch Ab-

sättigung der leicht hydrierbaren Doppelbindung der Lysergsäure um zwei; dadurch verringert sich auch die Zahl der Maxima der Absorptionskurven.

Auf Grund obiger Befunde möchten wir betonen, daß zur Beurteilung von Mutterkornalkaloiden, wie sie im Mutterkorn und seinen Zubereitungen, inklusive pharmazeutischer Spezialitäten, vorliegen, die Messung des Verlaufs der Absorptionskurve zwischen 500 und 700 mμ unbedingt notwendig ist und man sich nicht mit der Messung der Extinktion der „Blaulösungen" bei einer einzigen Wellenlänge oder gar mit nicht genau definierten Filtern begnügen darf.

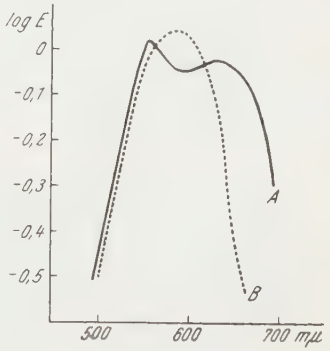


Abb. 1. Absorptionskurven der Mischungen 1 Vol. Alkaloidlösung (0,1 mg/ml; A Ergotamin, B Lumi-Ergotamin I) + 2 Vol. p-Dimethylaminobenzaldehyd-Reagens (Brit. Ph.).

Bei der Analyse von manchen käuflichen Mutterkornalkaloiden und deren Verarbeitungsprodukten hatten wir schon früher öfters beobachtet, daß das Minimum bei 586 mμ so sehr verflacht, daß es kaum mehr wahrnehmbar ist. Wir können nunmehr annehmen, daß diese Erscheinung durch das Vorhandensein von Lumi-Alkaloidformen bedingt ist. In von uns selbst geernteten Mutterkornproben konnten wir bisher keine Lumi-Alkaloide auffinden. In den handelsüblichen, sog. Rohalkaloiden, die meist mehr oder weniger stark gefärbt sind, konnten wir die Anwesenheit von Lumi-Alkaloiden, die wahrscheinlich im Laufe des Herstellungsprozesses gebildet werden, auf papierchromatographischem Wege folgendermaßen nachweisen: Bei der Chromatographie der ausfällbaren wasserunlöslichen Alkaloide nach dem von uns ausgearbeitetem Trennungsverfahren[5] bleiben am Startpunkt *van Urk*-positive, jedoch nicht fluoreszierende Substanzen zurück; das Absorptionsspektrum der mit diesen Substanzen erhältlichen „Blaulösungen" — durch Schütteln des Papierstücks mit verd. Secale-Reagens[6] — stimmte völlig mit dem der Lumi-Ergotaminfarbsalze überein. Zur quantitativen Bestimmung dieses Lumi-Anteiles wird die Extinktion dieser Farbsalzlösung mit der aus den gewanderten Alkaloiden erhaltenen bei 560 mμ (Schnittpunkt der Kurven) verglichen. Es wurden Lumi-Anteile bis zu 20% gefunden. Vergleichsversuche mit reinem Lumi-Ergotamin I und II zeigten, daß diese Substanzen bei der Papierchromatographie nach unserer Methode[5] am Startpunkt zurückgehalten werden. Das papierchromatographische Verhalten der anderen Lumi-Alkaloide soll Gegenstand späterer Untersuchungen sein.

Zusammenfassung.

Es wird über eine spektrophotometrische Unterscheidung der bekannten Mutterkornalkaloide von Lumi-Lysergsäurederivaten sowie über deren Nachweismöglichkeit berichtet.

Summary.

A report is given of a spectrophotometric differentiation of the familiar ergot alkaloids from lumi-lysergic acid derivatives. The detection possibilities are pointed out.

Résumé.

On présente une communication relative à une différenciation spectrophotométrique des alcaloides connus de l'ergot de seigle et des dérivés de l'acide lumi-lysergique et à la possibilité de leur identification.

Literatur.

[1] *M. Pöhm*, Mitt. chem. Forsch.-Inst. Wirtsch. Österr. **7**, 121 (1953).
[2] *M. Pöhm*, Arch. Pharmaz. **286**, 509 (1953).
[3] *M. Pöhm*, Österr. Apoth.-Ztg. **8**, 712 (1954).
[4] *A. Stoll* und *W. Schlientz*, Helv. Chim. Acta **38**, 585 (1955).
[5] *M. Pöhm* und *L. Fuchs*, Naturwiss. **41**, 63 (1954).
[6] *M. Pöhm* und *L. Fuchs*, Naturwiss. **40**, 244 (1953).

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der Universität Graz.

Metallfällungen mit Nitrophenylarsinsäuren.

Von

R. Pietsch.

(Eingelangt am 9. September 1955.)

Vor nicht allzu langer Zeit wurden am hiesigen Institut Versuche unternommen, Arsanilsäure als Fällungsmittel für Kupfer[1] zu verwenden. In der Folge wurden dann nicht nur die Fällungen der Metalle Kobalt[2] und Wismut[3] mit diesem Reagens untersucht, sondern auch die Metallfällungen der drei Isomeren, o-, m- und p-Aminophenylarsinsäure, qualitativ bearbeitet[4].

Durch die von *Feigl*[5] dargelegten Tatsachen der Gruppenwirkung organischer Verbindungen und die Einflüsse von Substituenten angeregt, wurden die Untersuchungen nunmehr auch auf die drei isomeren Nitrophenylarsinsäuren ausgedehnt. Durch die folgende Gegenüberstellung der Ergebnisse lassen sich ohne weiters Einflüsse der Stellung der Nitrogruppe auf die salzbildenden Eigenschaften der Arsensäuregruppe feststellen.

Die Herstellung der o- und p-Nitroverbindung erfolgte nach *H. Bart*[6], die der m-Isomeren durch Nitrierung von Phenylarsinsäure nach *Michaelis*[7].

Zur Fällung wurden alle drei Säuren in Form der Mononatriumsalze verwendet. Die Fällungen erfolgten meist bereits in der Kälte, in einzelnen Fällen erst beim Erhitzen.

o-Nitrophenylarsinsäure.

Die Niederschläge sind mit Ausnahme von Ca^{+2}, Hg^{+1} und Hg^{+2}, die kristallin fallen, flockig und zeigen, mit Ausnahmen, die von den jeweiligen Metallionen zu erwartenden Farben. Nachstehend die Zusammenfassung der Ergebnisse:

Tabelle 1.

Ionen	Farbe	pH des Fällungsbeginnes	Bemerkung
Alkalien		keine Reaktion	
Be^{+2}	weiß	5	nicht quantitativ
Mg^{+2}	weiß	9	quantitativ
Ca^{+2}	weiß	7	nicht quantitativ
Sr^{+2}		keine Reaktion	
Ba^{+2}		keine Reaktion	
Al^{+3}	weiß	3	quantitativ
Y^{+3}	weiß	1	quantitativ
La^{+3}	weiß	3,5	quantitativ
Ce^{+3}	weiß	2,5	quantitativ
Ti^{+4}	weiß	1	quantitativ
Zr^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Th^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
V^{+5}		keine Reaktion	
Cr^{+3}	blaugrün	4,5	quantitativ
Cr^{+6}		keine Reaktion	
Mo^{+6}		keine Reaktion	
W^{+6}		keine Reaktion	
U^{+6}	gelb	2,5	quantitativ
Mn^{+2}	weiß	5	quantitativ
Fe^{+2}	grün	1	quantitativ
Fe^{+3}	hellgelb	2	quantitativ
Co^{+2}	bräunlich	5	nicht quantitativ
Ni^{+2}	grünlich	6	quantitativ
Ru^{+3}		alkalisch, Farbreaktion hellgrün	
Rh^{+3}		keine Reaktion	
Pd^{+2}		keine Reaktion	
Ir^{+4}		alkalisch, geringe Aufhellung	
Pt^{+4}		sauer, starkes Dunkeln	
Cu^{+2}	grünlich	3	quantitativ
Ag^{+1}	weiß	6	quantitativ
Au^{+3}		keine Reaktion	
Zn^{+2}	weiß	3,5	quantitativ
Cd^{+2}	weiß	5	quantitativ
Hg^{+1}	gelb	1	quantitativ
Hg^{+2}	weiß	1	quantitativ
In^{+3}	weiß	1,5	quantitativ
Tl^{+1}		keine Reaktion	
Sn^{+2}	weiß	< 1	quantitativ
Sn^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Pb^{+2}	gelb	3	nicht quantitativ
$As^{+3}/^{+5}$		keine Reaktion	
Sb^{+5}		keine Reaktion	
Bi^{+3}	weiß	1	quantitativ
Se^{+4}		keine Reaktion	
$Te^{+4}/^{+6}$		keine Reaktion	

Die Niederschläge sind mit Ausnahme von Pb^{+2} und Fe^{+2} gut filtrierbar und lösen sich in verd. Mineralsäuren leicht auf. Diesbezügliche Ausnahme ist nur Zr^{+4}, das sich auch in konz. Salzsäure nicht auflöst. Sb^{+3} fällt ebenfalls bereits bei $p_H = 1$ aus, jedoch zum Großteil als basisches Salz.

m-Nitrophenylarsinsäure.

Auch mit diesem Reagens ist nur die Fällung von Zr^{+4} in konz. Salzsäure nicht löslich. Für Sb^{+3} gilt analog das bei der o-Nitroverbindung Gesagte. Auffallend ist die Aufhellung der Farbe der Niederschläge von U^{+6}, Cu^{+2} und Fe^{+3} gegenüber den in Tabelle 1 angeführten Niederschlägen dieser Ionen.

Tabelle 2 bringt die Zusammenstellung:

Tabelle 2.

Ionen	Farbe	p_H des Fällungsbeginnes	Bemerkung
Alkalien		keine Reaktion	
Be^{+2}	weiß	3	nicht quantitativ
Mg^{+2}	weiß	5	quantitativ
Ca^{+2}	weiß	6	quantitativ
Sr^{+2}		keine Reaktion	
Ba^{+2}		keine Reaktion	
Al^{+3}	weiß	2,5	quantitativ
Y^{+3}	weiß	1	quantitativ
La^{+3}	weiß	2,5	quantitativ
Ce^{+3}	weiß	2	quantitativ
Ti^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Zr^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Th^{+4}	weiß	1	quantitativ
V^{+5}		keine Reaktion	
Cr^{+3}	grünlich	1,5	quantitativ
Cr^{+6}		keine Reaktion	
Mo^{+6}		keine Reaktion	
W^{+6}		keine Reaktion	
U^{+6}	weiß	1	quantitativ
Mn^{+2}	weiß	2	quantitativ
Fe^{+2}	blaugrün	2,5	quantitativ
Fe^{+3}	weiß	1	quantitativ
Co^{+2}	violett	3	nicht quantitativ
Ni^{+2}	gelbgrün	4,5	quantitativ
Ru^{+3}		keine Reaktion	
Rh^{+3}		keine Reaktion	
Pd^{+2}		keine Reaktion	
Ir^{+4}		alkalisch, Aufhellung und leichte Trübung	
Pt^{+4}		Farbreaktion, alkalisch starkes Nachdunkeln	
Cu^{+2}	bläulichweiß	2,5	quantitativ
Ag^{+1}	weiß	4	quantitativ

(Fortsetzung der Tabelle.)

Ionen	Farbe	pH des Fällungsbeginnes	Bemerkung
Au^{+3}		keine Reaktion	
Zn^{+2}	weiß	2,5	quantitativ
Cd^{+2}	weiß	2,5	quantitativ
Hg^{+1}	weiß	1	quantitativ
Hg^{+2}	gelblichweiß	1	quantitativ
In^{+3}	weiß	1	quantitativ
Tl^{+1}		keine Reaktion	
Sn^{+2}	weiß	< 1	quantitativ
Sn^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Pb^{+2}	weiß	2,5	nicht quantitativ
$As^{+3}/^{+5}$		keine Reaktion	
Sb^{+5}		keine Reaktion	
Bi^{+3}	weiß	< 1	quantitativ
Se^{+4}		keine Reaktion	
Te^{+4}		keine Reaktion	

Die Niederschläge von Ca^{+2}, U^{+6} und Pb^{+2} sind kristallin, die anderen flockig. Sie sind mit Ausnahme von Cr^{+3} gut filtrierbar. Bei der Fällung von Fe^{+2} entsteht in einer angesäuerten Lösung öfters eine braune Färbung, die vermutlich auf eine Oxydation zurückzuführen ist.

p-Nitrophenylarsinsäure.

Die Niederschläge von Cu^{+2}, Fe^{+3} und U^{+6} sind bei diesem Reagens bereits farblos. Für Sb^{+3} gilt das bei der o-Nitroverbindung Gesagte.

Die Fällungsergebnisse zeigt Tabelle 3:

Tabelle 3.

Ionen	Farbe	pH des Fällungsbeginnes	Bemerkung
Alkalien		keine Reaktion	
Be^{+2}	weiß	2,5	nicht quantitativ
Mg^{+2}	weiß	5	quantitativ
Ca^{+2}	weiß	6	nicht quantitativ
Sr^{+2}		keine Reaktion	
Ba^{+2}		keine Reaktion	
Al^{+3}	weiß	1	quantitativ
Y^{+3}	weiß	2	quantitativ
La^{+3}	weiß	2,5	quantitativ
Ce^{+3}	weiß	2	quantitativ
Ti^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Zr^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Th^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
V^{+5}		keine Reaktion	
Cr^{+3}	grün	1	quantitativ

(Fortsetzung der Tabelle.)

Ionen	Farbe	p_H des Fällungsbeginnes	Bemerkung
Cr^{+6}		keine Reaktion	
Mo^{+6}		keine Reaktion	
W^{+6}		keine Reaktion	
U^{+6}	weiß	1	quantitativ
Mn^{+2}	weiß	2,5	quantitativ
Fe^{+2}	grünbraun	2,5	quantitativ
Fe^{+3}	weiß	1	quantitativ
Co^{+2}	violett	3	nicht quantitativ
Ni^{+2}	grünlich	5	quantitativ
Ru^{+3}		keine Reaktion	
Rh^{+3}		keine Reaktion	
Pd^{+2}		keine Reaktion	
Ir^{+4}	alkalisch, Aufhellung, leichte Trübung		
Pd^{+4}	Farbänderung grünbraun, alkalisch Dunkeln		
Cu^{+2}	weiß	2,5	quantitativ
Ag^{+1}	weiß	5	quantitativ
Au^{+3}		keine Reaktion	
Zn^{+2}	weiß	2,5	quantitativ
Cd^{+2}	weiß	3	quantitativ
Hg^{+1}	weiß	1	quantitativ
Hg^{+2}	weiß	1	quantitativ
In^{+3}	weiß	1	quantitativ
Tl^{+1}		keine Reaktion	
Sn^{+2}	weiß	< 1	quantitativ
Sn^{+4}	weiß	< 1	quantitativ
Pb^{+2}	weiß	3	nicht quantitativ
$As^{+3/+5}$		keine Reaktion	
Sb^{+5}		keine Reaktion	
Bi^{+3}	weiß	< 1	quantitativ
Se^{+4}		keine Reaktion	
Te^{+4}		keine Reaktion	

Alle Niederschläge mit Ausnahme von Ca^{+2}, das auch hier wieder kristallin ist, sind flockig und lassen sich mit Ausnahme von Mn^{+2} und Cr^{+3} gut filtrieren. Die Niederschläge von Zr^{+4} sind auch hier wieder in konz. Salzsäure unlöslich.

Die Tabelle 4 bringt die Gegenüberstellung des Fällungs-p_H der Metallionen mit den einzelnen Isomeren.

Aus der Lage des Fällungs-p_H-Wertes und der Tatsache, daß die angeführten Ionen kein ausgedehntes Fällungs-p_H-Bereich, wie etwa Hydroxydfällungen, aufweisen, lassen sich unmittelbare Trennungsmöglichkeiten erkennen. Dabei muß man natürlich eine gewisse Verschiebung der angegebenen p_H-Werte, bedingt durch Verschiedenheiten der Konzentration und der Arbeitsbedingungen, berücksichtigen; besonders bei Mg^{+2} ist diese Abhängigkeit ziemlich groß.

Tabelle 4. Nitrophenylarsinsäuren.

p_H	o-Nitro	m-Nitro	p-Nitro
1	Sn^{+2}, Sn^{+4}, Zr^{+4}, Th^{+4} Bi^{+3}, Hg^{+2}, Sb^{+3}, Hg^{+1} Y^{+3}, Ti^{+4}, Fe^{+2}, Hg^{+2}	Bi^{+3}, Ti^{+4}, Zr^{+4}, Th^{+4} Sn^{+2}, Sn^{+4}, Y^{+3}, U^{+6}, Fe^{+3} Hg^{+1}, Hg^{+2}, In^{+3}, Sb^{+3}	Bi^{+3}, Ti^{+4}, Zr^{+4}, Th^{+4} Sn^{+2}, Sn^{+4}, Sb^{+3}, Al^{+3}, Cr^{+3} U^{+6} Hg^{+2}, Fe^{+3}, Hg^{+1}, In^{+3}
	In^{+3}	Cr^{+3}	
2	Fe^{+3}	Ce^{+3}, Mn^{+2}	Y^{+3}, Ce^{+3}
	U^{+6}, Ce^{+3}	Al^{+3}, La^{+3}, Cu^{+2}, Zn^{+2}	La^{+3}, Mn^{+2}, Cu^{+2}, Zn^{+2}
3	Al^{+3}, Cu^{+2}, (Pb^{+2})	Cd^{+2}, Fe^{+2}, (Pb^{+2}) (Be^{+2}, Co^{+2})	Fe^{+2}, (Be^{+2}), Cd^{+2} (Co^{+2}, Pb^{+2})
	Zn^{+2}, La^{+3}		
4		Ag^{+1}	
	Cr^{+3}	Ni^{+2}	
5	Mn^{+2}, Cd^{+2}, (Be^{+2}) (Co^{-2})	Mg^{+2}	Mg^{+2}, Ni^{+2}, Ag^{-1}
6	Ni^{+2}, Ag^{+1}	(Ca^{+2})	(Ca^{+2})
7	(Ca^{+2})		
8			
9	Mg^{+2}		

Bei einem Teil der Elemente, wie etwa Sn^{+2}, Sn^{+4}, Bi^{+3}, Th^{+4}, Ti^{+4}, Cu^{+2} usw., ist die Stellung der Nitrogruppe scheinbar ohne Einfluß auf den p_H-Wert, bei dem die Fällung dieser Ionen eintritt. Bei einem weit größeren Teil aber bringt die Änderung der Stellung der Nitrogruppe auch eine mehr oder weniger starke Änderung des zugehörigen p_H-Wertes mit sich. Bei wiederum dem größten Teil der Elemente, die zu dieser Gruppe gehören, ist eine Verschiebung zu stärker sauren Werten festzustellen, wenn die Nitrogruppe statt in o-Stellung in p-Stellung gebunden ist. Dies trifft bei Cr^{+3}, Mg^{+2}, Cd^{+2}, Al^{+3}, Co^{+2}, Ni^{+2}, Ca^{+2} usw. zu, läßt sich jedoch auch in abgeschwächtem Maße bei Zn^{+2}, La^{+3} und einigen anderen Ionen erkennen. Seltener ist der Fall, daß sich das Fällungs-p_H bei gleicher Stellungsänderung der Nitrogruppe erhöht, wie etwa bei Fe^{+2}.

Darin liegt ein Unterschied gegenüber dem Verhalten der Ionen bei der Fällung mit den verschiedenen Aminophenylarsinsäuren. Dort tritt nur bei einem geringeren Teil der Elemente eine Änderung des Fällungs-p_H-Wertes in Abhängigkeit von der Stellung der Aminogruppe ein.

Zusammenfassung.

Die qualitative Fällung von Metallionen mit den drei isomeren o-, m- und p-Nitrophenylarsinsäuren wird beschrieben und auf Unterschiede der p_H-Werte des Fällungsbeginnes hingewiesen. Die Beeinflussung des Fällungsbeginnes durch die Stellung der Nitrogruppe wird hervorgehoben.

Summary.

The precipitation of metal ions by means of *o*-, *m*-, and *p*-nitrophenyl arsonic acids is described. The differences of the p_H values of the start of the precipitation are pointed out. The effect of the position of the nitro group on the beginning of the precipitation is stressed.

Résumé.

On décrit la précipitation qualitative d'ions métalliques par les trois isomères *o.*, *m.* et *p.* de l'acide nitrophénylarsonique et l'on donne des indications concernant les différences de valeur du p_H lors du commencement de précipitation. On met en évidence l'influence de la position du groupe nitro sur le commencement de précipitation.

Literatur.

[1] *A. Musil* und *R. Pietsch*, Z. analyt. Chem. **140**, 422 (1953).
[2] *A. Musil* und *R. Pietsch*, Z. analyt. Chem. **142**, 82 (1954).
[3] *A. Musil* und *R. Pietsch*, Z. analyt. Chem. **144**, 347 (1955).
[4] *R. Pietsch*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 954.
[5] *F. Feigl*, Chemistry of Specific, Selectiv and Sensitiv Reactions. New York: Academic Press. 1949.
[6] *H. Bart*, Ann. Chem. **429**, 75, 95 (1922).
[7] *A. Michaelis*, Ann. Chem. **320**, 294 (1902).

Mikroanalytisches Laboratorium, VÚOS, Pardubice-Rybitví, ČSR.

Papierchromatographische Trennung und Identifizierung von Benzidin und seinen Isomeren.

XII. Mitteilung über die Identifizierung organischer Verbindungen[1].

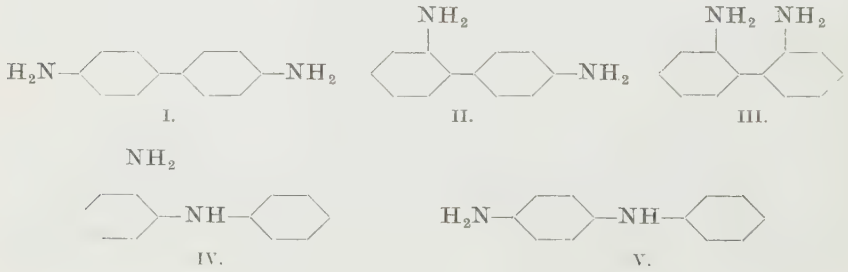
Von

J. Gasparič, J. Petránek und **M. Večeřa.**

(Eingelangt am 19. September 1955.)

Vor kurzer Zeit wurde in unserem Laboratorium eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung kleiner Mengen Hydrazobenzol ausgearbeitet[2]. Hydrazobenzol wurde zu Benzidin umgelagert, die erhaltenen Amine nach Diazotierung mit N-α-Naphthyläthylendiamin gekuppelt und kolorimetrisch bestimmt. Im Zusammenhang mit dieser Methode und dem Studium der Benzidinumlagerung war es wünschenswert, die Produkte dieser Umlagerung zu identifizieren. Dafür schien die Papierchromatographie am besten geeignet, jedoch erwiesen sich die meisten bisherigen Methoden zur Trennung einfacher aromatischer Amine für unseren Zweck als unbefriedigend[3–6].

Im folgenden berichten wir über eine Methode zur Trennung und Identifizierung aller fünf in Frage kommenden Isomeren, die im Reaktionsgemisch nach der Benzidinumlagerung zu suchen waren. Es handelte sich um Benzidin (I), Diphenylin (II), o-Benzidin (III), 2-Aminodiphenylamin (IV) und 4-Aminodiphenylamin (V).



Präparate.

Die zur Chromatographie benützten Präparate waren verschiedener Herkunft. I war ein Präparat der Firma Merck, II, IV und V waren alte Laboratoriumpräparate und III wurde aus 2,2′-Dinitrodiphenyl durch Reduzieren mit Zinn und Salzsäure hergestellt[7].

Lösungsmittelsysteme.

Bei der Untersuchung der für die papierchromatographische Trennung der genannten isomeren Amine geeigneten Lösungsmittelsysteme haben wir mehrere Wege gewählt. Bei Anwendung gebräuchlicher papierchromatographischer Methoden mit Wasser als stationäre Phase haben wir verschiedene Gemische organischer Lösungsmittel mit Essigsäure oder Salzsäure und Wasser erprobt. Verschiedene Alkoholgemische waren jedoch ungeeignet, da wir nur sehr unvollkommene Trennungen erzielten, bzw. zu hohe R_f-Werte erhielten. Bei Anwendung der unteren Phase eines Gemisches von Tetrachlorkohlenstoff : Essigsäure : Wasser (50 : 10 : 40) erhielten wir zwar eine gute Trennung, es zeigte sich aber, daß die R_f-Werte nicht reproduzierbar und von der Konzentration abhängig waren.

Befriedigender waren die Ergebnisse bei Anwendung der „reversed-phase chromatography", wenn wir von mit Petroleum oder Siliconöl imprägniertem Filtrierpapier Gebrauch machten und als bewegliche Phase ein Gemisch von Wasser : Methylalkohol : konz. Ammoniak (90 : 5 : 5) benutzten. Doch war auch in diesem Falle die Trennung noch nicht vollkommen. Die besten Ergebnisse erhielten wir mit Filtrierpapieren, die mit Formamid vorbehandelt wurden. Bei Anwendung von Benzol als bewegliche Phase erzielten wir unvollkommene Trennung und hohe R_f-Werte, mit Chloroform wanderten die Amine mit der Lösungsmittelfront, mit Cyklohexan als bewegliche Phase erzielten wir aber eine vollkommene und scharfe Trennung aller fünf Isomeren. Die Chromatogramme waren gut reproduzierbar und die Flecken rund. In weiteren Versuchen haben wir daher nur das System Formamid/Cyklohexan benützt.

Papier.

Alle Chromatogramme wurden auf Whatmanpapier Nr. 4 durchgeführt. Es wurden Bogen von 13 cm Breite und 40 cm Länge zugeschnitten. Beim Imprägnieren der Filtrierpapiere mit Formamid wurden die Bogen durch eine 10%ige Lösung von Formamid in Äthylalkohol gezogen und 15 bis 30 Minuten an der Luft bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet.

Darstellung der Chromatogramme.

Die zu trennenden Stoffe wurden als 0,1 bis 0,5%ige Lösungen der freien Basen in Alkohol mittels Kapillarpipette auf das Papier aufgetragen.

Der Start war 7 cm vom oberen Ende des Bogens entfernt. Von jeder Komponente wurden 3 μl aufgebracht, was 3 bis 15 μg der Basen entspricht. Die aufzutragenden Lösungen wurden immer frisch bereitet, da sonst die in den Lösungen beim Stehen gebildeten Nebenprodukte Unschärfe der Chromatogrammflecken verursachten. Die Durchführung der Chromatogramme erfolgte nun in der für die absteigende Form der Papierchromatographie allgemein üblichen Weise. Für eine Wanderungsstrecke von etwa 27 bis 30 cm vom Start betrug die Laufzeit bei 23 $\pm$ 1° C zirka 2 Stunden. In allen Fällen wurden die Chromatogramme an der Luft bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet.

Nachweis am Papier.

Wir verwendeten hierzu Farbreaktionen aromatischer Amine mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und Diazotierung mit nitrosen Gasen und Kupplung mit N-α-Naphthyläthylendiamin[8]. Das o-Benzidin konnte durch seine bläuliche Fluoreszenz im UV-Licht identifiziert werden.

Nach der Trocknung der Chromatogramme wurden diese mit einer 1%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in einem Gemisch von Äthylalkohol und konz. Salzsäure (95 + 5) besprüht. Nach einigen Sekunden erschienen die Amine als charakteristisch gefärbte Flecke. Diese zeigen im UV-Licht charakteristische Fluoreszenz, besonders in kleinen Mengen. Der ockergelbe Fleck von 2-Aminodiphenylamin verschwindet nach einigen Tagen, aber an seiner Stelle erscheint eine hellblaue Fluoreszenz. Hydrazobenzol, das sich durch die Einwirkung des sauren Reagens umlagert, erscheint zuerst als gelber Fleck, der sich aber in 1 bis 2 Minuten orange färbt.

Beim Nachweis mit N-α-Naphthyläthylendiamin wurden die getrockneten Chromatogramme mit 5%iger Salzsäure besprüht und in einen plangeschliffenen Glaszylinder eingehängt, in dem sich am Boden eine Schale mit salzsaurer Natriumnitritlösung befand. Nach 5 bis 10 Minuten wurden die Chromatogramme herausgenommen, 15 Minuten gelüftet und dann mit einer 0,5%igen wäßrigen Lösung von N-α-Naphthyläthylendiamin-dihydrochlorid besprüht. Das 2-Aminodiphenylamin erschien schon bei der Diazotierung als rosavioletter Fleck.

Ergebnisse.

In der Tabelle 1 sind die Resultate unserer Versuche zusammengestellt. Die angegebenen R_f-Werte sind durchwegs Mittelwerte von mindestens 25 Messungen, wobei die Einzelwerte Schwankungen um $\pm$ 0,03 zeigten.

Wir haben außerdem die Konzentrationsabhängigkeit und die Anwesenheit anderer Isomerer sowie auch von Hydrazobenzol auf die R_f-Werte einzelner Amine studiert und gefunden, daß sowohl die Kon-

zentration im Umfang von 1 bis 30 μg als auch die Anwesenheit anderer Isomerer oder Hydrazobenzol keine Änderungen der R_f-Werte hervorrufen.

Tabelle 1.

Substanz	R_f bei $23 \pm 1°C$	Fluoreszenz im UV-Licht	Mit p-Dimethylaminobenzaldehyd			Mit N-α-Naphthyläthylendiamin	
			Färbung	Fluoreszenz	nachweisbare Menge μg	Färbung	nachweisbare Menge μg
Benzidin (I)	0,02	—	orange	orange	0,1	blau	0,1
Diphenylin (II)	0,18	—	gelb	gelbgrün	0,5	blauviolett	1
o-Benzidin (III)	0,57	hellblau	gelb	dunkelgrün	1	rotviolett	0,5
2-Aminodiphenylamin (IV)	0,74	—	ockergelb	—	3	rosaviolett	2
4-Aminodiphenylamin (V)	0,33	—	rot	rot	1	violett	1
Hydrazobenzol	0,86	—	orange	orange	—	blau	—

Die Methode ist zur Analyse von Reaktionsgemischen nach der Umlagerung von Hydrazobenzol sowie zur Kontrolle der Reinheit einzelner Produkte der Umlagerung nach der Isolierung vollkommen geeignet. In Zukunft wollen wir diese Methode auch zur Trennung und Identifizierung der Umlagerungsprodukte substituierter Hydrazobenzole verwenden.

Zusammenfassung.

Es wird eine papierchromatographische Trennung von Benzidin und seinen Isomeren, die bei der Umlagerung von Hydrazobenzol entstehen, beschrieben. Am besten bewährte sich mit Formamid vorbehandeltes Filtrierpapier und Cyklohexan als Lösungsmittel. Zum Nachweis der Verbindungen am Papier wurden Farbreaktionen mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und nach dem Diazotieren die Kupplung mit N-α-Naphthyläthylendiamin verwendet.

Summary.

A paper chromatographic separation is described of benzidine and its isomers, which are formed during the rearangement of hydrazobenzene. The best results were obtained with filter paper pretreated with formamide

and with cyclohexane as solvent. The compounds on the paper were identified by color reactions with *p*-dimethylaminobenzaldehyde or by diazotization followed by coupling with N-α-naphthylethylenediamine.

Résumé.

On décrit une séparation chromatographique sur papier de la benzidine et de ses isomères qui se forment par transposition de l'hydrazobenzène. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec un papier filtre préalablement traité par la formamide et avec le cyclohexane comme solvant. Pour identifier les combinaisons sur papier, on a utilisé les réactions colorées avec le p-diméthylaminobenzaldéhyde et, après diazotation, la copulation avec la N-α-naphtyléthylènediamine.

Literatur.

[1] IX. Mitt.: Chem. Listy **49**, 706 (1955); X. und XI. Mitt.: Chem. Listy im Druck.

[2] *M. Večeřa* und *J. Petránek*, Chem. Listy **48**, 1351 (1954).

[3] *B. Ekman*, Acta Chem. Scand. **2**, 383 (1948).

[4] *S. I. Burmistrov*, Zhur. Anal. Khim. **5**, 39 (1950).

[5] *F. Micheel* und *H. Schweppe*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 53.

[6] *J. Bertetti*, Ann. chim. **44**, 495 (1954); zitiert nach Chem. Abstr. **49**, 6783 (1955).

[7] *St. von Niementowski*, Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 3325 (1901).

[8] *I. M. Hais* und *K. Macek*, Papírová chromatografie, Nakladatelství Československ. akademie věd. 1954. S. 480 und 494.

Aus dem Chemischen Institut der Montanistischen Hochschule Leoben.

Ein neues Mikrocoulometer.

Von

E. Schwarz-Bergkampf und **R. Reichert.**

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 31. August 1955.)

Die Bedeutung coulometrischer Methoden in der Maßanalyse ist erstens durch die elektrolytische Erzeugung des Maßreagens gekennzeichnet, wobei die Strommenge als Maß für den Reagensverbrauch gilt, wodurch die Verwendung der verschiedenen üblichen Maßlösungen überflüssig wird. Zweitens wird durch die Messung der Strommenge die Möglichkeit gegeben, kleinste Substanzmengen, die maßanalytisch nur mit ungenügender Genauigkeit bestimmbar sind, mit einer Genauigkeit zu erfassen, die nur von der Strommengenmessung und der Endpunktsanzeige abhängig ist. Und drittens ermöglicht die coulometrische Maßanalyse, durch Verwendung konstanter Spannungen Oxydations- und Reduktionstitrationen selektiv durchzuführen. Die Anwendung dieser Methode setzt die Entwicklung geeigneter, auch für kleinste Strommengen genau arbeitender Strommengenmeßgeräte (Coulometer) voraus.

Die bisher entwickelten Methoden der Strommengenmessung beruhen auf der gravimetrischen Bestimmung von abgeschiedenem Ag, Cd, Pb und Silberhalogenid, wobei genügende Genauigkeit erst bei großen Strommengen erzielt wird[1]. Die maßanalytische Bestimmung der Strommenge stellt die Umkehrung der coulometrischen Maßanalyse dar und ist daher für die Messung kleinster Strommengen nicht geeignet[2]. Ein von *R. A. Lehfeldt*[3] entwickeltes Kapillar-Quecksilbercoulometer, bei dem Hg an der Anode gelöst und dann wieder kathodisch abgeschieden wird, wobei die Längenänderung der Kathode mikroskopisch gemessen wird, erscheint durch die methodisch bedingte, geringe anwendbare Stromdichte und die damit verbundene lange Meßdauer für die coulometrische Maßanalyse wenig geeignet. Die elektrische Messung der Strommenge erfolgt durch Zeitmessung von Strömen hoher Konstanz[4] oder durch elektronische Impulsmessung, wobei auch zeitlich veränderliche Ströme mit sehr hoher Genauigkeit bestimmbar sind[5]. Die volumetrische Bestimmung von Knallgas wurde schon vielfach

zur Strommengenmessung herangezogen, da hierbei mit geringem Aufwand genaue Messungen durchgeführt werden können, die allerdings bei kleinen Strommengen durch methodische Fehler stark beeinträchtigt werden[6].

Hingegen ist es mit einer von *R. Jeller*[7] beschriebenen Apparatur, die ursprünglich zur Bestimmung kleiner Mengen von Kohlendioxyd und Methan ausgearbeitet wurde, möglich, sehr geringe Gasvolumina durch empfindliche Druckmessung bei konstantem Volumen zu bestimmen.

Die Apparatur nach *Jeller* besteht aus drei Gefäßen, dem Arbeitsgefäß A mit bekanntem Volumen, das einen seitlichen Ansatz trägt und die Elektroden enthält, dem Korrektionsrohr K und der in Millimeter geteilten beweglichen Meßröhre M mit einer fest angeordneten Ablesemarke. Alle Gefäße sind untereinander durch Gummischläuche in Verbindung. Um die Temperatur während der Messung konstant zu halten, sind die Gefäße A und K mit einem Wassermantel umgeben.

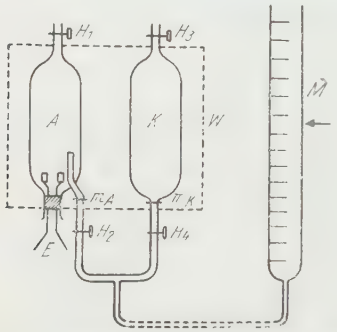


Abb. 1. Skizze des *Jeller*-Apparates mit Elektroden E, Arbeitsrohr A, Korrektionsrohr K, Meßröhre M, Hähnen H, Einstellmarken m und Wassermantel W.

Das Arbeitsrohr wird durch zwei Hähne (H_1, H_2) abgeschlossen und ist am unteren Ende des Ansatzes mit einer Einstellmarke m_A versehen. Die Bestimmung des Volumens kann auf zwei Arten erfolgen. 1. Man füllt das Gefäß soweit, daß der Wasserspiegel über dem oberen Ende des seitlichen Zuleitungsrohres liegt, und stellt dann auf m_A ein. Man schließt nun bei H_1 eine normale Gasbürette an und verdrängt das in A befindliche Gas durch die Sperrflüssigkeit. 2. Aus der unten angeführten Gl. (5b) kann das Volumen v berechnet werden, wenn die Strommenge Q auf anderem Wege mit genügender Genauigkeit bestimmbar ist. Man verwendet zu dieser Eichung zweckmäßigerweise ein Silber- oder Kupfercoulometer.

Das Korrektionsrohr K ist analog wie A mit zwei Hähnen (H_3, H_4) und einer Ablesemarke m_K versehen.

Als Elektrodenmaterial wird nach *Lingane*[4] Platin und als Elektrolyt 0,2-m Kaliumsulfatlösung verwendet. Bei Verwendung von Natrium- oder Kaliumhydroxyd mit Silber- oder Nickelelektroden erhält man durch Peroxydbildung um 1 bis 2% zu niedere Strommengen.

Das Meßprinzip beruht auf der Druckänderung in A infolge des entwickelten Knallgases. Da aber nicht der Absolutdruck gemessen wird, sondern die Druckdifferenz A bis K, ist es nötig, den jeweils in K herrschenden Absolutdruck zu bestimmen, der nur von der Temperatur und nicht mehr vom jeweiligen Luftdruck abhängig ist.

$$\sigma = m_K - m_A \text{ (bei offenem Arbeitsrohr)}, \tag{1}$$

$$h = m_A - m_K \text{ (bei geschlossenem Arbeitsrohr)}, \tag{2}$$

$$\delta = (b - f) \cdot 13{,}6 + \sigma, \tag{3}$$

$$p_1 = \delta + h_1, \tag{4a}$$

$$p_2 = \delta + h_2, \tag{4b}$$

$$Q = \frac{T_0 \cdot v \cdot (p_2 - p_1) \cdot p_2 \cdot D}{0{,}1740 \cdot 760 \cdot 13{,}6 \cdot T \cdot p_1}, \tag{5a}$$

$$Q = \frac{0{,}1519 \cdot v \cdot (p_2 - p_1) \cdot p_2 \cdot D}{p_1 \cdot T}. \tag{5b}$$

m_A, m_K = Flüssigkeitssäule in mm bei Einstellung auf m_A bzw. m_K,
h = Differenz der Ablesungen m_A und m_K, und zwar vor (h_1) oder nach (h_2) der Elektrolyse,
δ = Druck im Korrektionsrohr,
b = Luftdruck in Torr,
f = Wasserdampftension in Torr,
p = Druck im Arbeitsrohr, und zwar vor (p_1) oder nach (p_2) der Elektrolyse,
v = Volumen des Arbeitsgefäßes in ml,
D = Dichte der Sperrflüssigkeit,
T = Temperatur des Wassermantels (° Kelvin),
Q = Strommenge in Amperesekunden (A · sek = Cb).

Die Bestimmung von δ kann auch durch ein Nomogramm erfolgen[8].

Bei sämtlichen Messungen ist zu beachten, daß das andere Niveau auch auf der Marke steht, da nicht der Wasserstand, sondern an der festen Marke der Meßröhre abgelesen wird.

1. Die Bestimmung von δ.

Die Hähne H_1 und H_2 sind geschlossen, H_3 und H_4 offen, man stellt durch Verschieben der Meßröhre das Niveau auf m_K ein und liest bei der Marke der Meßröhre ab. H_4 wird geschlossen und H_1 und H_2 geöffnet; man stellt nun auf m_A ein und erhält aus den beiden Ablesungen σ nach (1) und δ nach (3).

2. Meßvorgang.

Man mißt zunächst den Druck in K durch Einstellen des Niveaus auf m_K und dann den in A durch Einstellen auf m_A, wobei nun die Hähne H_1 und H_3 geschlossen bleiben. Aus diesen Ablesungen erhält man nach (2) h_1 bzw. nach (4) p_1. Nun wird elektrolysiert. Nach Beendigung des Stromdurchganges wird der oben beschriebene Vorgang zur Be-

stimmung von h_2 bzw. p_2 wiederholt. Man erhält nach (5) die Strommenge Q in Amperesekunden.

Tabelle 1. Meßwerte.

	Gemessen		$Q_{ber.}$	Fl.-S.	$Q_{gef.}$	Abweichung	
	mA	sek	A·sek	mm	A·sek	A·sek	%
1	6,8	180	1,32	18	1,25	+ 0,07	+ 5,4
2	8,7	180	1,57	22	1,54	— 0,03	— 1,9
3	11,0	180	1,98	28	1,96	— 0,02	— 1,0
4	13,5	180	2,43	34	2,39	— 0,04	— 1,6
5	15,0	180	2,70	39	2,73	+ 0,03	+ 1,1
6	10,5	300	3,15	45	3,16	+ 0,01	+ 0,31
7	15,3	240	3,72	53	3,68	— 0,04	— 1,1
8	19,5	240	4,68	67	4,72	+ 0,02	+ 0,43
9	19,5	300	5,85	83	5,84	— 0,01	— 0,17
10	28,0	240	6,72	95	6,73	+ 0,02	+ 0,30
11	38,2	180	6,88	98	6,92	+ 0,04	+ 0,58
12	25,3	300	7,59	107	7,58	— 0,01	— 0,13
13	29,1	300	8,73	123	8,74	+ 0,01	+ 0,11
14	41,0	240	9,84	140	9,82	— 0,02	— 0,20
15	24,9	600	14,94	209	14,96	+ 0,02	+ 0,13
16	139,7	180	25,14	346	25,10	— 0,04	— 0,16
17	147,0	240	35,28	478	35,25	— 0,03	— 0,08
18	132,9	300	39,87	539	39,90	+ 0,03	+ 0,07

$v = 130{,}0$ ml, $D = 1{,}03$. Für Nr. 1 bis 10 $T = 292{,}6$, $b = 696{,}4$.
Nr. 11 bis 18 $T = 293{,}0$, $b = 696{,}8$.

Im Mittel ergibt sich eine Schwankung von $\pm$ 0,027 A·sek ohne systematische Abweichung, entsprechend einem Ablesefehler von nur 0,5 mm Flüssigkeitssäule. Die Grenzen des Meßbereichs der Apparatur ergeben sich prinzipiell nach oben aus der Größe des Arbeitsgefäßes und der Länge der Meßröhre und nach unten aus der Genauigkeit der Ablesungen, die zumindest im allgemeinen $\pm$ 1 mm Flüssigkeitssäule beträgt. Bei Verwendung eines 150-ml-Gefäßes mit einer 500-mm-Meßröhre, also 500 mm Druckunterschied, ergibt sich ein Bereich von 3 bis 35 Cb und ein Relativfehler von 2 bzw. 0,2%. Bei Verwendung eines 50-ml-Gefäßes erhält man einen Bereich von 1 bis 14 Cb bei gleicher Genauigkeit.

Die Möglichkeit, das Volumen des Arbeitsgefäßes der zu messenden Strom- bzw. Knallgasmenge anzupassen, kennzeichnet einen Vorteil dieser Methode gegenüber der üblichen volumetrischen Bestimmung. Durch die Verwendung des Korrektionsrohres und des Wassermantels werden die bei länger dauernden Arbeiten nicht mehr zu vernachlässigenden äußeren Druck- und Temperaturschwankungen auf einfache Art ausgeschaltet. Die volumetrische Bestimmung kleiner Strommengen ist

durch die Verwendung graduierter, englumiger Gefäße und durch die nicht vollständig mögliche Entfernung der an Elektroden und Gefäßwänden haftenden Gasblasen erschwert. Durch die volumetrische Miterfassung des Elektrolyten mit den Elektroden beim Jeller-Apparat wird auch diese Fehlermöglichkeit vermieden.

Diese apparativen und methodischen Vorteile lassen die beschriebene neue Methode vor allem bei der Bestimmung kleiner Strommengen der volumetrischen Methode überlegen erscheinen.

Zusammenfassung.

Es wird ein Knallgascoulometer hoher Genauigkeit nach dem Prinzip der Druckmessung bei konstantem Volumen beschrieben. Durch die apparative Anordnung werden äußere Druck- und Temperaturschwankungen ausgeschaltet und die bei der Bestimmung kleiner Strommengen nach der volumetrischen Methode durch anhaftende Gasblasen und das Arbeiten in engen Gefäßen verursachten Fehler vermieden.

Summary.

A description is given of a detonating gas coulometer of high accuracy. It is based on the principle of pressure measurement at constant volume. The apparatus is so designed that external pressure and temperature variations are eliminated. Likewise, the errors are avoided which arise in the determination of slight currents by the volumetric method because of adhering gas bubbles and as a result of working in narrow vessels.

Résumé.

On décrit un coulombmètre à gaz tonnant de grande précision dont le principe de fonctionnement est basé sur une mesure de pression à volume constant. La conception de l'appareil permet d'éliminer les effets des variations de pression et de température extérieures ainsi que les erreurs résultant de l'adhérence des bulles gazeuses et de l'emploi de récipients de faibles volumes lors de la mesure de faibles quantités d'électricité par la méthode volumétrique.

Literatur.

[1] *V. Bolton*, Z. Elektrochem. **2**, 73 (1895); *F. Fischer*, *K. Thiele* und *B. Maxted*, Z. anorg. Chem. **67**, 339 (1910); *W. Ostwald* und *R. Luther*, Hand- und Hilfsbuch zur Ausführung physikalisch-chemischer Messungen. 5. Aufl. Leipzig: Akadem. Verlagsges. 1931; *E. L. Quinn* und *G. A. Hulett*, J. Physical Chem. **17**, 770 (1941); *S. Szebellédy* und *Z. Somogyi*, Z. analyt. Chem. **112**, 313 (1938).

[2] *N. Drucker*, Z. Elektrochem. **19**, 8 (1913); *S. Karagloanoff*, Z. Elektrochem. **11**, 488 (1905); *I. Kistiakowsky*, Z. Elektrochem. **12**, 713 (1906).

[3] *R. A. Lehfeldt*, Phil. Mag. **15/16**, 614 (1908).

[4] *W. N. Carson*, Jr., Analyt. Chemistry **25**, 226 (1953); *P. Delahay* und *G. Mamantov*, Analyt. Chemistry **27**, 478 (1955); *K. W. Kramer* und *R. B. Fischer*, Analyt. Chemistry **26**, 415 (1954); *J. J. Lingane*, J. Amer. Chem. Soc.

67, 1916 (1945); *L. Meites*, Analyt. Chemistry **24**, 1057 (1952); *Ch. N. Reilley, W. D. Cooke* und *N. H. Furman*, Analyt. Chemistry **23**, 1030 (1951); *W. Oelsen, H. Haase* und *G. Graue*, Z. angew. Chem. **64**, 76 (1952).

[5] *W. N. Carson*, Jr., und *Roy Ko*, Analyt. Chemistry **23**, 1019 (1951); *D. D. De Ford, C. J. Johns* und *J. N. Pitts*, Analyt. Chemistry **23**, 941 (1951); *J. N. Pitts*, Jr., *D. D. De Ford, Th. W. Martin* und *E. A. Schmall*, Analyt. Chemistry **26**, 628 (1954); *J. J. Lingane*, Analyt. Chemistry **26**, 622, 1021 (1954); *P. S. Tutundžić*, Analyt. Chim. Acta **8**, 168 (1953); *E. N. Wise, P. W. Gilles* und *Ch. A. Reynolds*, Jr., Analyt. Chemistry **25**, 1344 (1953); **26**, 779 (1945).

[6] *I. Berkeš*, Mikrochem. **40**, 160 (1952); *W. D. Cooke* und *N. H. Furman*, Analyt. Chemistry **22**, 896 (1950); *R. A. Lehfeldt*, Philos. Mag. **3/4**, 158 (1902); *J. J. Lingane*, Electroanalytical Chemistry. New York: Interscience. 1953; *N. Tafel*, Ber. dtsch. chem. Ges. **33**, 2209 (1900).

[7] *R. Jeller*, Z. angew. Chem. **9**, 692 (1896).

[8] *E. Schwarz-Bergkampf*, Z. analyt. Chem. **80**, 104 (1931).

Aus dem Institut für biochemische Technologie und Lebensmittelchemie der Technischen Hochschule Graz.

Beiträge zur qualitativen „Test Tube"-Papierchromatographie.

Von

G. Gorbach, H. Demmel und **S. Gräsböll.**

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 17. September 1955.)

Mit der „Test Tube"-Papierchromatographie haben *Rockland* und *Dunn*[1] die aufsteigende Chromatographie zu einer bequemen, raschen und ökonomischen Mikrotrennung am Filterpapierstreifen in gewöhnlichen Eprouvetten entwickelt. Es wurde nun der Versuch unternommen, die Methoden der Reagensglas-Papierchromatographie zu verbessern, Fehlerquellen zu überprüfen und brauchbare quantitative Bestimmungsmethoden für Aminosäuren auszuarbeiten. Wir konnten feststellen, daß, abgesehen von einer großen Papier-, Lösungsmittel- und Zeitersparnis, die Empfindlichkeit der „Test Tube"-Methode ungefähr dreimal so groß ist wie die der normalen Papierchromatographie. Tabelle 1 möge eine Übersicht über die wichtigsten Daten der Methodik geben.

Tabelle 1.

	Eindimensional	Zweidimensional
Abmessung des Papiers	170 × 70 × 7 mm	180 × 180 mm
Steighöhe des Lösungsmittels	ca. 160 mm	je 160 mm
Laufdauer bei 20°	„ 4 bis 6 Stunden	„ 4 bis 6 Stunden
Laufdauer bei 45°	„ 3 Stunden	„ 3 Stunden
Lösungsmittelmenge	0,4 ml	„ 5 ml
Trockendauer	5 Min. bei 60 bis 70°	„ 5 Min. bei 60 bis 70°
Maximalmenge je Aminosäuren	5 μg	15 μg
Noch identifizierbare Menge Aminosäure	0,3 μg	1 μg

1. Die Apparatur.

Wir verwendeten Eprouvetten mit einer Länge von ungefähr 180 mm und einem Innendurchmesser von 16 mm. Mit einer Pipette bringt man das Lösungsmittelgemisch auf den Grund dieses Reagensglases und führt danach den Papierstreifen ein, der so dimensioniert ist, daß er mit seinem oberen Ende in der Eprouvette klemmt und so aufrecht im Lösungsmittel steht. Der Streifen darf auf keinen Fall an den Wänden anliegen, da sonst die Strömungsverhältnisse im Papier gestört und die Chromatogramme unbrauchbar werden.

Die Abmessungen der Papierstreifen sind also in gewissen Grenzen durch die Reagensglasgröße bestimmt. Wenn die Streifenbreite am unteren Ende etwas schwankt, so hat das nach unseren Untersuchungen keinen Einfluß auf den R_f-Wert. Die Aminosäuren bringt man 6 mm vom unteren Rand entfernt auf und läßt den Streifen 3 mm in das Lösungsmittel eintauchen.

Beim zweidimensionalen Arbeiten wird das Blatt zu einem Zylinder zusammengerollt, am Rand mit Zwirn oder rostfreien Klammern zusammengeheftet und aufrecht in einen Standzylinder von 20 cm Höhe und 8 cm Innendurchmesser gestellt. Hat die Steigfront des Lösungsmittels den oberen Rand des Blattes erreicht, wird es herausgenommen, getrocknet, um 90° gedreht, wieder geheftet und in das Gefäß mit dem anderen Lösungsmittel gestellt.

Die Chromatographiergefäße werden mit Gummistoppeln oder Glasdeckeln mit Dichtungsringen luftdicht verschlossen, sättigen sich sofort mit dem Lösungsmitteldampf und benötigen daher keine sogenannte „Einlaufzeit" wie die großen Chromatographierkammern. Wenn die Reagensgläser während des Chromatographierens geöffnet werden oder nicht dicht verschlossen sind, werden die R_f-Werte höher. Dies ist leicht einzusehen, da die Steiggeschwindigkeit der Lösungsmittelfront nicht mehr der der Aminosäuren entspricht, wenn das Lösungsmittel verdunstet.

Die Steighöhe des Lösungsmittels ist meistens durch die Länge der Papierstreifen bestimmt. Auch mit ihr verändern sich die R_f-Werte bis zu einem gewissen Grad, da bei der aufsteigenden Chromatographie die Steiggeschwindigkeit mit der Höhe abnimmt. Daher müssen die R_f-Werte mit größerer Steighöhe des Lösungsmittels wachsen. Wir konnten aber feststellen, daß diese Zunahmen so minimal sind, daß sie bei Steighöhenunterschieden bis zu 40 mm noch innerhalb der erlaubten Fehlergrenze von $\pm$ 0,02 liegen und daher geringe Differenzen der Steighöhe praktisch unbedeutend sind.

2. Das Aufbringen der Aminosäuren.

Für diesen Arbeitsgang muß größte Sorgfalt aufgewendet werden. Vor allem ist darauf zu achten, daß der entstehende Fleck einen Durch-

messer von 3 mm nicht überschreitet. Dies entspricht im allgemeinen einer Flüssigkeitsmenge von 0,5 µl. Wir verwendeten dazu feinste Kapillaren, die sich infolge des engen Lumens selbst vollsaugen und durch Auftupfen auf das Papier wieder entleert werden können. Größere Mengen sind portionsweise aufzutragen, wobei man die vorhergehende Portion immer zuerst eintrocknen läßt. Dieses etwas langwierige Verfahren ist unbedingt notwendig, da nur so scharfe, wenig ausgedehnte Aminosäureflecken entstehen können, wodurch es dann möglich ist, bei eindimensionalem Arbeiten auf einer Laufstrecke von 160 mm sieben Aminosäuren vollständig voneinander zu trennen. Wir versuchten auch, die Aminosäuren anstatt punktförmig in Form eines dünnen Streifens quer zur Steigrichtung aufzutragen, was sich aber nicht günstig auswirkte.

3. Lösungsmittel zum Aufbringen der Aminosäuren.

Für das richtige Aufbringen der Aminosäuren und somit für den Erfolg der Analyse ist das Medium, worin die Aminosäuren gelöst werden, von größter Bedeutung. Diese Tatsache wird meist zu wenig beachtet. Folgende Forderungen sind an ein gutes Lösungsmittel zu stellen:

a) Gutes Lösungsvermögen für alle Aminosäuren. Cystin und Tyrosin und einige andere sind in Wasser schwer löslich. In organischen Lösungsmitteln sind Aminosäuren überhaupt kaum löslich. Das gute Lösungsvermögen ist insofern wichtig, als es bei der qualitativen Klein-Papierchromatographie erstrebenswert ist, die Aminosäuren mit kleinstmöglichem Flüssigkeitsvolumen auf das Papier zu bringen.

b) Die Aminosäuren dürfen mit dem Lösungsmittel nicht reagieren.

c) Die Aminosäuren müssen vor einem eventuellen Abbau durch Mikroorganismen geschützt sein (Aufbewahren von Testlösungen).

d) Hohe Viskosität und trotzdem große Flüchtigkeit des Lösungsmittels, damit der auf dem Papier gebildete Tropfen klein bleibt und außerdem rasch verdampft.

e) Die Lösungsmittel dürfen den p_H-Wert auf dem Papier nicht allzusehr verändern. Zum Beispiel sind die basischen Aminosäuren bei höherem p_H-Wert überhaupt nicht chromatographierbar.

Wir fanden, daß bei der Aminosäure-Papierchromatographie konz. Ameisensäure den genannten Anforderungen am besten entspricht. Sie ist allen Alkohol-Wasser-Mischungen in bezug auf Lösungsvermögen und kleine Dimensionen der Startflecken weit überlegen. Die basischen Aminosäuren geben aus ameisensaurer Lösung sehr saubere und kompakte Flecken, was bei Verwendung von Salzsäure z. B. nicht der Fall ist. Nur Tryptophan wird bei längerem Stehen mit Ameisensäure unter rötlicher Verfärbung zersetzt, ein merklicher Abbau tritt aber erst nach einigen Tagen ein. Ältere Lösungen von Arginin geben abnormal lange Flecken von 5 bis 7 mm Breite und bis zu 32 mm Länge, was die Trennungen sehr erschwert.

4. Filterpapier.

Mit einer Trennung von Glycin, Alanin, Valin und Leucin mit 80%igem n-Propanol als Lösungsmittel prüften wir die vorhandenen Papiersorten (Schleicher & Schüll 598h, 602h, 1101, 1101h, 1102h, 1104b, 1104, 1575, 2043a, 2043b, 2045a und 2045b) auf ihre Trennungseigenschaften. Auf Grund dieser Untersuchungen verwendeten wir für alle weiteren Arbeiten Papier S & S 2043b, da es optimale Trennungseigenschaften mit einer gewissen Steifheit vereint, die das Anlegen und Einknicken hintanhält. Daneben ist auch das Papier 2043a gut geeignet, das zwar etwas dünner ist, aber sonst die gleichen Eigenschaften wie das vorher genannte besitzt. Diese Papiersorten sind dem bei den amerikanischen Arbeiten hauptsächlich verwendeten Whatman 1-Papier mindestens gleichwertig.

Wir untersuchten den Einfluß verschiedener Papierchargen auf die R_f-Werte und fanden, daß diese nur Differenzen aufweisen, die innerhalb der erlaubten Fehlergrenzen liegen (0,02 bzw. 0,01)[2]. Lediglich die Steiggeschwindigkeit kann bei Papieren von verschiedenen Paketen bis um 50% differieren.

5. Lösungsmittelgemische zum Chromatographieren.

Es ist bis heute noch nicht möglich, die Zusammensetzung eines Lösungsmittelgemisches mit optimalen Trenneigenschaften vorauszuberechnen; man ist dabei noch immer auf Versuche und Erfahrungen angewiesen. Von den mit Wasser teilweise mischbaren Lösungsmitteln verwendeten wir nur Phenol, das die Forderung nach weitestgehender Verteilung der R_f-Werte über die gesamte Steighöhe am besten erfüllt. Es ist vor allem zur Trennung von Glycin und Serin sowie Alanin und Threonin unentbehrlich. Nachteilig wirkt sich beim Phenol das Festhaften am Papier aus, von dem es auch nach längerem Trocknen kaum vollständig zu entfernen ist. Das stört zwar nicht beim qualitativen, wohl aber beim quantitativen Arbeiten. Wir verwendeten stets frisch über Zinkstaub dest. Phenol, das unter Wasser aufbewahrt wurde und so zugleich vor dem Rotwerden geschützt und wassergesättigt war. Beim Trocknen der in Phenol gelaufenen Streifen darf die Temperatur 70° C auf keinen Fall überschreiten, da bei den oft vorgeschlagenen Trocknungstemperaturen von 95 bis 110° die Aminosäuren in beträchtlichem Ausmaß von Phenol angegriffen werden. Außerdem werden die Flecken dann schlechter eluierbar. Unsere Versuche zeigten eine deutliche Abnahme der Aminosäurewerte nach längerem Trocknen über 75° C. Die Aminosäureverluste betragen nach 90 Minuten bei 120° gegen 25%.

Einen Ersatz für das teure Collidin fanden wir in einem Gemisch von n-Propanol und Wasser im Verhältnis 80 : 20. Dieses Mischungsverhältnis erwies sich optimal zur exakten Trennung; bei zu geringem

Wassergehalt bleiben die Aminosäuren am Ausgangspunkt sitzen, bei zu hohem werden die Flecken unscharf und verwaschen.

Für die Aminosäuren mit hohen R_f-Werten (Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Methionin, Valin, Tyrosin und Tryptophan), die in den vorher genannten Lösungsmitteln schwer zu trennen sind, ist die Anwendung gewisser ternärer Gemische günstig. Die von *Boissonas*[3] vorgeschlagenen Gemische von tert. Butanol-Methyläthylketon-Wasser und tert. Butanol-Methanol-Wasser änderten wir für das Arbeiten mit höheren Temperaturen in ihrer Zusammensetzung etwas ab. Ausgedehnte Reihenversuche ergaben als optimales Verhältnis bei tert. Butanol-Methyläthylketon-Wasser 3 : 2 : 1, bei tert. Butanol-Methanol-Wasser 4 : 4 : 1. Diese Gemische sind auch für die zweidimensionale Chromatographie gut verwendbar.

Es ist günstig, immer frisch zubereitete Lösungsmittel zu verwenden, da auch deren Alter einen gewissen Einfluß auf die R_f-Werte ausübt. Für diese Versuche verwendeten wir als Lösungsmittel 80%iges Propanol, und zwar eine 8 Monate alte, eine 1 Monat alte und eine frisch zubereitete Lösung. Bei einer Chromatographiertemperatur von 45° wurden für Arginin und Methionin folgende R_f-Werte ermittelt:

	8 Monate alt	1 Monat alt	frisch
Arginin	0,15	0,17	0,18
Methionin	0,50	0,52	0,54

Die älteste Lösung scheint in bezug auf die R_f-Werte stabil geworden zu sein.

Das ternäre Lösungsmittelgemisch tert. Butanol-Methyläthylketon-Wasser 3 : 2 : 1 wurde auf die gleiche Art geprüft.

	8 Monate alt	frisch
Arginin	0,22	0,19
Methionin	0,42	0,36
Phenylalanin	0,48	0,42

In diesem Falle ändern sich die R_f-Werte in der umgekehrten Richtung, mit dem Alter des Lösungsmittels nehmen sie zu.

6. Temperatureinfluß.

Schon geringe Temperaturänderungen beeinflussen die R_f-Werte ziemlich stark. Daher wird die Temperatur, die meistens 20 bis 25° beträgt, auf $\pm$ 1° genau eingehalten und im allgemeinen zu den R_f-Werten mit angegeben.

Wir untersuchten nun den Einfluß höherer Temperaturen während der Laufzeit auf das Verhalten der Chromatogramme und konnten folgendes feststellen:

a) Die Steiggeschwindigkeit des Lösungsmittels nimmt zu und die Chromatographierdauer bei einer Temperaturerhöhung auf das Doppelte um fast die Hälfte ab. Sie beträgt z. B. beim Lösungsmittelgemisch Propanol-Wasser (80 : 20) nur mehr $2^3/_4$ Stunden bei 50 bis 55° C gegenüber $4^1/_2$ Stunden bei 20°.

b) Die Löslichkeit der Aminosäuren in der organischen Phase nimmt zu und als Folge davon werden die R_f-Werte höher. Dies ist bei der Verwendung der verschiedenen wassermischbaren Lösungsmittel von Vorteil, da bei ihnen die R_f-Werte ohnedies in der Regel kleiner als 0,5 sind.

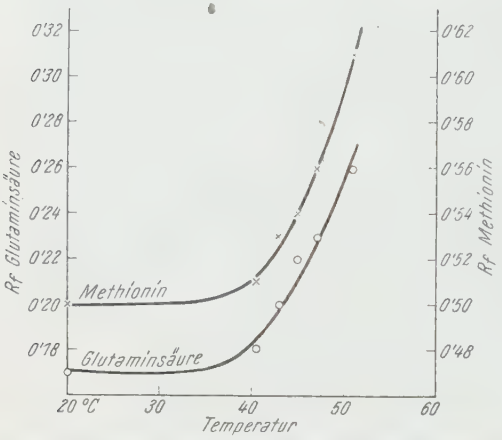


Abb. 1. R_f-Werte von Methionin und von Glutaminsäure in n-Propanol-Wasser (80:20) bei verschiedenen Temperaturen.

Die Kurven der Abb. 1 sollen die Abhängigkeit der R_f-Werte des Methionins und der Glutaminsäure von der Temperatur veranschaulichen.

Bei Verwendung von Phenol ist diese Steigerung des R_f-Wertes weniger erwünscht, da die von Natur aus hohen R_f-Werte noch höher werden und die Schärfe und Kompaktheit der Flecken darunter leidet.

Durch diese Erhöhung der R_f-Werte liegen die einzelnen Flecken am Chromatogramm weiter auseinander und es lassen sich bei höheren Temperaturen oft auch solche Aminosäuren voneinander trennen, deren Absorptionsgebiete sich bei gewöhnlicher Temperatur überlappen.

Zur bequemeren und rascheren Übersicht geben wir die R_f-Werte nicht nur in Zahlen, bezogen auf die Mittelpunkte der Flecken, an, sondern zeichnen die R_f-Wert-Bereiche der ganzen Flecken (5 bis 10 Einheiten) in Diagramme ein. Man kann so mit einem Blick feststellen, ob sich zwei Aminosäuren voneinander trennen lassen oder ob sie sich überlappen. Die Diagramme der Abb. 2 zeigen die R_f-Wert-Bereiche verschiedener Aminosäuren in tert. Butanol-Methanol-Wasser (4 : 4 : 1) bei 20° C und bei 45° C.

c) Soweit die einzelnen Lösungsmittelkomponenten einen halbwegs gleichen Verlauf der Dampfdruckkurve zeigen, können die Lösungsmittelgemische in derselben Zusammensetzung wie bei 20° C belassen werden. Das gilt z. B. für das Propanol-Wasser-Gemisch (80 : 20). Bei höheren Temperaturen ist besonders auf luftdichten Abschluß der

Eprouvetten zu achten, da sonst die Streifen austrocknen und damit die Steiggeschwindigkeit abnimmt.

Als optimal erwies sich eine Arbeitstemperatur von zirka 45 bis 50° C, da hier die erwähnten Vorteile, wie verkürzte Laufzeit und größere

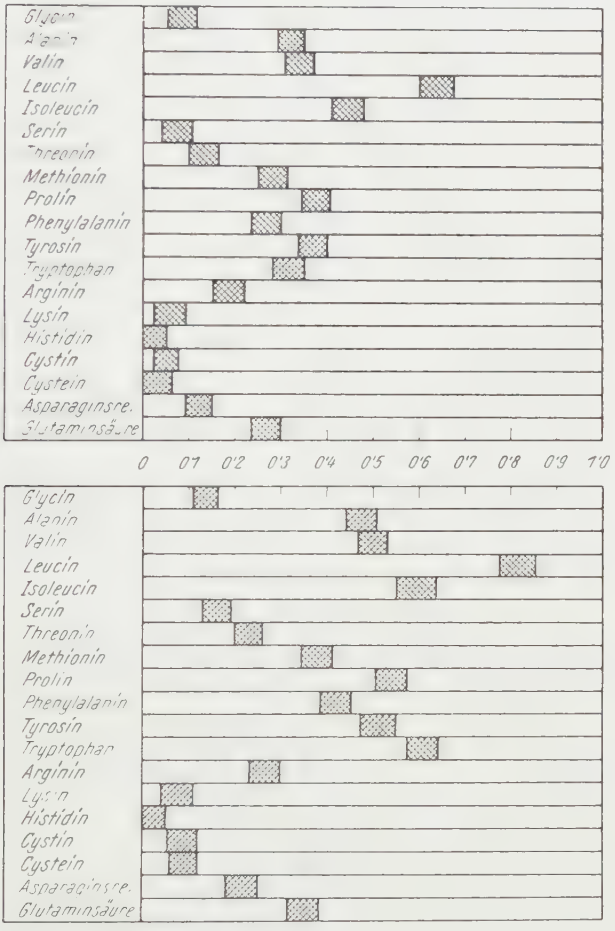


Abb. 2.

Differenzierung der R_f-Werte, noch nicht von den Nachteilen der ausgedehnteren und unschärferen Flecke beeinträchtigt werden. Da die Kurven zwischen 40 und 45° C rapid ansteigen, muß aber die Temperatur in diesem Bereich besonders genau eingehalten werden. Als Thermostat genügt jeder Trocken- oder Brutschrank, da die Eprouvetten überall leicht unterzubringen sind.

7. Reagenzien zur Entwicklung.

Zum Entwickeln der Flecken ist Ninhydrin wohl am besten geeignet. Allerdings fanden wir, daß das meistens verwendete wassergesättigte n-Butanol nicht das günstigste Lösungsmittel für diesen Zweck darstellt. Nach eingehenden Untersuchungen mit Wasser, n-Butanol, n-Amylalkohol, Aceton, Essigester und Pyridin stellte sich heraus, daß die drei letztgenannten Lösungsmittel am besten geeignet sind. Welches von den dreien man wählt, hängt von der angewendeten Technik ab.

Üblicherweise wird das gelöste Ninhydrin auf das Papier gesprüht. Dazu verwendet man am besten eine 0,1%ige Lösung in Pyridin (Kp. 116°), da es nicht so leicht flüchtig ist und besonders farbstarke Flecken ergibt. Es löst aber den Komplex sofort und die Flecken laufen stark auseinander, was jedoch durch rasches Trocknen verhindert werden kann.

Einfacher und bequemer ist es, die Streifen in eine Eprouvette mit Reagenslösung zu tauchen. Die Farbe wird dadurch intensiver, doch bewirkt hier die geringste Löslichkeit von Aminosäure oder Komplex ein Auseinander- und Ineinanderlaufen der Flecken. In diesem Fall bewährte sich ein Essigester-Aceton-Gemisch. Aceton (Kp. 56°) löst zwar den Komplex, trocknet aber so rasch, daß die Flecken nur wenig auseinanderlaufen und gibt eine sehr intensive Farbe. Mit Essigester (Kp. 77°) entstehen ganz scharfe Flecken, die allerdings zur Entwicklung etwas länger brauchen und auch nicht so farbstark werden wie mit Aceton oder Pyridin.

Tabelle 2.

Aminosäure	Farbe der Ninhydrinkomplexe
Alanin	violett
Arginin-HCl	hellblau—blauviolett
Asparaginsäure	graugrünlich
Cystein	rötlich
Cystin	rötlich
Glutaminsäure	blau—blauviolett
Glykokoll	hellviolett
Histidin	graugrünlich—braun
Isoleucin	violett
Leucin	violett
Methionin	hellviolett mit rosa Steigfront
Oxyprolin	schwach gelb
Phenylalanin	grünlichblau—blau
Prolin	schwach gelb
Serin	braunviolett
Threonin	schwach violett
Tryptophan	rosa, gelblich
Valin	violett

Zur Identifizierung der einzelnen Aminosäuren ist es mitunter vorteilhaft, daß diese beim Besprühen mit Ninhydrin in Pyridin zum Teil verschieden gefärbte Komplexverbindungen geben. Die Tabelle 2 gibt die Farben einiger Aminosäure-Ninhydrin-Komplexe an.

Die Flecken müssen gleich nach dem Entwickeln am Streifen markiert werden, da sie infolge der Flüchtigkeit der Farbkomplexe allmählich verblassen und verschwinden.

Man kann die Aminosäuren auch ohne besonderes Entwicklungsreagens auf dem Filterpapier sichtbar machen, da sie beim Erhitzen auf 105° mit der Zellulose eine im UV-Licht hellblau fluoreszierende Verbindung eingehen. Diese Reaktion ist aber für kleinste Aminosäuremengen, wie sie bei der Reagensglas-Papierchromatographie auftreten, schon zu unempfindlich und gibt nur mehr unsichere Resultate. Wenn man nachher eine quantitative Bestimmung durchführen will, darf man diese Methode überhaupt nicht anwenden, da sich so hoch erhitzte Aminosäuren nur mehr unvollständig und schwer eluieren lassen.

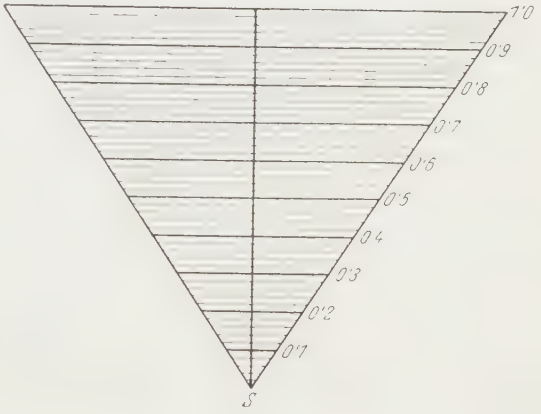


Abb. 3.

8. R_f-Werte.

Um die zur Bestimmung des R_f-Wertes nötige Quotientenbildung rasch und ohne Rechnung durchführen zu können, benützten wir ein Nomogramm in Form der Abb. 3 auf Transparentpapier. Dieses wird mit dem Punkt S auf dem Startpunkt der Aminosäuren befestigt und so lange gedreht, bis die Steigfront des Lösungsmittels die oberste waagrechte Linie des Nomogramms schneidet, die den R_f-Wert 1 bezeichnet. Die Linie der Skala, die nun durch den Mittelpunkt des zu bestimmenden Fleckes geht, gibt den R_f-Wert der betreffenden Aminosäure an. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die von uns gefundenen R_f-Werte.

9. Relative R_f-Wert-Bestimmung.

Da der R_f-Wert von so vielen Faktoren beeinflußt werden kann und es oft schwierig ist, konstante R_f-Werte zu erhalten, hat man auch schon vielfach den sogenannten R_s-Wert vorgeschlagen. Dieser ist der

Quotient aus der Steighöhe der Aminosäure und der Steighöhe einer Bezugssubstanz, z. B. Leucin. Zur Umrechnung in den gesuchten R_f-Wert muß man den R_x-Wert einer Substanz mit dem R_f-Wert der Bezugssubstanz multiplizieren. Die R_x-Werte können auf verschiedene Weise praktisch bestimmt werden.

Tabelle 3.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Glycin	0,45	0,51	0,12	0,17	0,07	0,13	0,08	0,19
Alanin	0,50	0,59	0,23	0,27	0,31	0,48	0,08	0,19
Valin	0,74	0,81	0,40	0,47	0,33	0,50	0,27	0,42
Leucin	0,84	0,89	0,51	0,58	0,64	0,82	0,35	0,48
Isoleucin	0,86	0,90	0,55	0,61	0,44	0,60	0,42	0,55
Serin	0,27	0,51	0,12	0,23	0,06	0,16	0,13	0,15
Threonin	0,53	0,78	0,23	0,28	0,13	0,23	0,08	0,12
Methionin	0,74	0,83	0,40	0,45	0,27	0,38	0,31	0,46
Prolin	0,88	0,93	0,31	0,38	0,37	0,55	0,12	0,45
Phenylalanin	0,89	0,90	0,49	0,52	0,26	0,42	0,36	0,59
Tyrosin	0,54	0,73	0,32	0,40	0,37	0,52	0,27	0,45
Tryptophan	0,73	0,81	0,32	0,39	0,32	0,62	0,32	0,45
Arginin	0,60	0,67	0,12	0,17	0,18	0,27	0,04	0,07
Lysin	0,39	0,59	0,11	0,12	0,05	0,08	0,05	0,05
Histidin	0,71	0,77	0,02	0,04	0,02	0,03	0,02	0,02
Cystin	0,29	0,44	0,02	0,03	0,05	0,09	0,02	0,02
Cystein	0,36	0,44	0,03	0,05	0,03	0,09	0,02	0,03
Asparaginsäure	0,25	0,39	0,08	0,10	0,12	0,22	0,03	0,03
Glutaminsäure	0,38	0,54	0,13	0,20	0,27	0,36	0,04	0,07

I R_f-Werte in Phenol-Wasser bei 20° C
II R_f-Werte in Phenol-Wasser bei 45° C
III R_f-Werte in n-Propanol-Wasser (80 : 20) bei 20° C
IV R_f-Werte in n-Propanol-Wasser (80 : 20) bei 45° C
V R_f-Werte in tert. Butanol-Methanol-Wasser (4 : 4 : 1) bei 20° C
VI R_f-Werte in tert. Butanol-Methanol-Wasser (4 : 4 : 1) bei 45° C
VII R_f-Werte in tert. Butanol-Methyläthylketon-Wasser (3 : 2 : 1) bei 20° C
VIII R_f-Werte in tert. Butanol-Methyläthylketon-Wasser (3 : 2 : 1) bei 45° C

Entweder befindet sich die Bezugssubstanz direkt in der zu untersuchenden Lösung, oder man läßt auf einem breiten Streifen oder auf zwei getrennten Streifen die unbekannte Substanz und die Vergleichssubstanz nebeneinander laufen.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß die korrigierten R_f-Werte sehr genau stimmen, daß aber auch die nicht korrigierten R_f-Werte meistens gleich sind, und wenn sie differieren, dann fast immer innerhalb der Fehlergrenzen. Man könnte daher ohne weiteres die Gepflogenheit beibehalten, in der Literatur immer den R_f-Wert anzugeben, zumal dieser sich an einem Chromatogramm sofort und ohne Bezugselement ablesen läßt.

Zusammenfassung.

Bei der Trennung und Bestimmung verschiedener reiner Aminosäuren wurde die in vieler Hinsicht einfachere und raschere „Test Tube-Methodik" näher studiert. Zum Lösen der Aminosäuren erwies sich Ameisensäure als besonders günstig. Bezüglich des Trennungseffektes haben sich als Eintauchmittel besonders eine Mischung von n-Propanol-Wasser und bestimmte ternäre Gemische von tert. Butanol-Methyläthylketon-Wasser und tert. Butanol-Methanol-Wasser bewährt. Außerdem wurde festgestellt, daß die „Test Tube"-Papierchromatographie besonders auch bei höheren Temperaturen verwendbar ist und hier bessere und raschere Trennungseffekte erzielt werden können. Die Fehlerquellen bei der Bestimmung der R_f-Werte wurden eingehend geprüft und die R_f-Werte von 19 Aminosäuren bei verschiedenen Bedingungen in Tabellen angegeben.

Summary.

A closer study of the "Test Tube Method", which is simpler and faster, was made in the separation and determination of various amino acids. Formic acid was found to be especially good for dissolving the amino acids. With respect to the separation effect, it was found that a mixture of n-propanol-water and certain ternary mixtures of tertiary butanol-methylethylketone-water and tertiary butanol-methanol-water are good as immersion agents. It was also shown that the "Test Tube" paper chromatography is also applicable at higher temperatures and gives better and more rapid separation effects. The sources of error in the determination of the R_f values were investigated closely and a table is included showing the R_f values of 19 amino acids under various conditions.

Résumé.

On a approfondi l'étude de la «technique du tube à essais» dont l'emploi pour la séparation et le dosage de différents amino-acides purs est des plus simples et des plus rapides à de multiples points de vue. Il est apparu que l'acide formique était un solvant particulièrement approprié pour les amino-acides. En ce qui concerne l'effet de séparation, on a obtenu d'excellents résultats par immersion dans un mélange de propanol normal et d'eau ou dans des mélanges ternaires définis de butanol tertiaire, de méthyléthylcétone et d'eau ou de butanol tertiaire, de méthanol et d'eau. On a, en outre, établi que la chromatographie sur papier par la méthode du «tube à essais» est également utilisable lorsqu'on élève la température et qu'elle permet alors d'obtenir des effets de séparation meilleurs et plus rapides. Les sources d'erreurs de la détermination des valeurs de R_f ont été étudiées en détail; un tableau fournit les valeurs de R_f relatives à 19 aminoacides dans des conditions diverses.

Literatur.

[1] *L. P. Rockland* und *M. Dunn*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 4121 (1949).

[2] *F. Turba*, Chromatographische Methoden in der Proteinchemie. Heidelberg: Springer-Verlag. 1954. S. 92.

[3] *R. A. Boissonas*, Helv. Chim. Acta **33**, 1966 (1950).

Laboratoire de Chimie Analytique, Institut de Chimie, Université de Nagoya, Japon.

Une nouvelle méthode de dosage colorimétrique de l'oxygène dissous dans l'eau.

Par

Motoharu Tanaka.

Avec 6 Figures.

(Reçu le 16 juillet 1955.)

Introduction.

Les nombreuses recherches sur le dosage de l'oxygène dissous sont pour la plupart basées sur la titrimétrie présentée par *Winkler*[1] et qui est maintenant la plus employée. On propose plusieurs modifications pour éviter les interférences de certaines substances comme nitrate, nitrite[2], fer ferreux[3], ou matières organiques[4].

Pour doser une petite quantité d'oxygène, on emploie la coloration par l'iode produit dans la méthode de *Winkler*[5–7]. D'un autre côté on fait intervenir quelques agents donnant une coloration avec l'oxygène: l'ammoniac et le cuivre métallique[8, 9], 2,4-diaminophénol[10], pyrocatéchol et le fer ferreux[11], sulfosalicylate et le fer ferreux[12], β-sulfonate d'anthraquinone[13], thiocyanate et le fer ferreux[14], et divers révélateurs de photographie[15–18]. Parmi ces réactifs, on en emploie quelques uns[10–12, 17, 18] pour le dosage de l'oxygène dissous, mais ils ne présentent pas, en général, les garanties de spécificité et de plus ils nécessitent un appareil compliqué ou spécial.

Récemment *Loomis*[19], employant la leuco-base du carmin d'indigo, acheva une méthode de dosage microcolorimétrique de l'oxygène dissous qui avait été précédemment appliquée à la bière[20]. Bien qu'elle soit simple et ne nécessite qu'un ml d'échantillon pour chaque dosage, elle permet difficilement de doser l'oxygène en présence des matières qui gênent la méthode de *Winkler*[1].

Nous croyons avoir trouvé, au cours de notre recherche sur l'application analytique de la formaldoxime, la solution du problème du dosage

colorimétrique de l'oxygène dissous, dont la coloration est suffisamment spécifique et stable en présence des autres matières; nous affirmons que les matières organiques, le nitrate, le nitrite, le fer ferreux etc. ne font pas obstacle dans la méthode que nous préconisons.

Principe de la méthode.

En 1913, *Hoffmann* et *Ehrhardt*[21] signalèrent une coloration rouge-orangé se développant à partir de la surface libre de la solution lorsque l'on verse de la formaldoxime dans une solution manganeuse alcalinisée. C'est ainsi que l'analyse du dérivé manganique de la formaldoxime fut établie par eux, non seulement par voie directe, mais également au moyen de la mesure de la quantité d'oxygène absorbée par un sel manganeux au cours de la formation du complexe.

Donc si l'on peut obtenir une solution décolorée et claire de manganèse-formaldoxime, cette dernière solution sera très sensible à l'oxygène et l'on observera une coloration rouge-orangé du dérivé manganique de la formaldoxime qui se produit par la réaction entre l'oxygène et la manganèse-formaldoxime décolorée. Pour l'analyse de l'oxygène, jusqu'à ce jour, personne n'employa cette réaction connue depuis longtemps. Suivant nos expériences, elle est tellement spécifique qu'on peut l'utiliser avec succès dans le dosage colorimétrique de l'oxygène dissous.

Notre étude débute par la préparation de la solution décolorée et claire de manganèse-formaldoxime.

Préparation du réactif.

Réactifs nécessaires.

1° Formaldoxime: Elle se prépare d'après la méthode de *Denigès*[22] recommandée par *Kahane*[23]; on dissout simplement 2 g de chlorhydrate d'hydroxylamine et 1 ml de solution de formol à 35% dans 50 ml d'eau.

2° Sulfate manganeux: 1 ml de cette solution correspond à 1 mg de manganèse.

3° Ammoniaque 4 N.

Préparation.

On prépare d'abord une solution du dérivé manganique de la formaldoxime: A 200 ml d'eau distillée, on mélange successivement 10 ml de solution de formaldoxime et 10 ml de solution manganeuse. Jusqu'au moment où l'on observe une légère teinte rouge-orangé, on y verse de l'ammoniaque (4 N) dont on ajoute 10 ml en excès. On complète alors la solution avec de l'eau distillée jusqu'à 250 ml. La solution plus étendue ne donne pas une courbe d'étalonnage bien droite (voir la Fig. 5).

Nous avons essayé deux voies de réduction pour décolorer la solution ainsi obtenue:

1° Réduction par la poudre de zinc.

2° Réduction par l'amalgame de zinc.

L'emploi de ce dernier agent n'est pas à conseiller, la solution réduite étant trouble malgré le succès de la décoloration. Or, la liqueur décolorée et très claire se prépare quand on fait couler la solution du dérivé manganique de la formaldoxime dans une colonne chargée de 50 g environ de poudre de zinc (30 mailles). Elle se recolore nettement au contact de l'oxygène atmosphérique.

Appareils nécessaires.

1° Cuvette pour la mesure photométrique.

Il est d'une grande importance d'éviter la contamination de l'oxygène atmosphérique quand on dose la teneur en oxygène à l'échelle du micro-

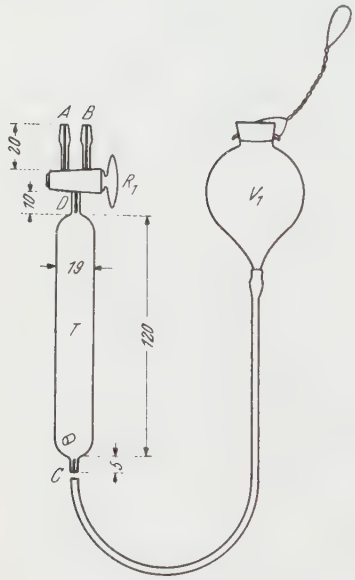


Fig. 1. Cuvette pour la mesure photométrique. Unité de longueur: mm.

Fig. 2. Colonne à réduction du réactif. Unité de longueur: mm.

gramme. On construit une cuvette (Fig. 1): R_1 est un robinet à trois voies; T est un tube dont le volume est 25 ml et le diamètre intérieur 17 mm; A, B, C et D sont des tubes effilés d'un mm de diamètre intérieur. Au moyen d'un tube en caoutchouc on peut faire communiquer C avec

le vase V_1 dont le volume est près de 100 ml. Dans le tube T on enferme un petit morceau de verre afin de pouvoir facilement mélanger le liquide introduit. On peut mettre le tube T dans le porteur-cuvette du «Coleman's Model 14 Universal Spectrophotomètre».

2⁰ Colonne à réduction du réactif.

Elle se compose d'un vase communiquant avec une colonne à l'extrémité de laquelle est fixé un robinet. Dans la Fig. 2, V_2 est le vase de 50 ml de volume, F la colonne, R_2 un robinet et enfin E est un tube effilé d'un mm de diamètre intérieur. On met dans F 50 g environ de poudre de zinc

Fig. 3. Récipient de l'échantillon. Unité de longueur: mm.

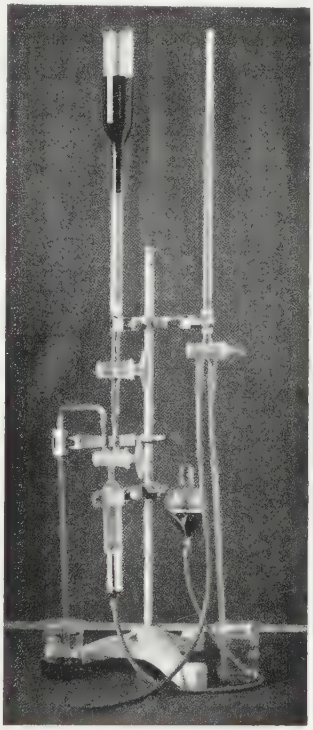


Fig. 4.

(30 mailles) avec de l'eau, en faisant attention de n'introduire aucune bulle d'air qui fera obstacle dans la manipulation de la réduction qui suit.

3⁰ Récipient de l'échantillon.

Comme on voit dans la Fig. 3, c'est un vase cylindrique allongé et gradué qui porte un robinet à trois voies R_3 de préférence; à l'aide d'un tube en caoutchouc on peut relier ce récipient à C de la cuvette montrée dans la Fig. 1. G et H sont des tubes éffilés d'un mm de diamètre intérieur.

Dans la Fig. 4 nous donnons une photographie de ces appareils.

Mode opératoire.

Dans le vase V_2 on dispose 50 ml environ de la solution rouge-orangé du dérivé manganique de la formaldoxime. A l'aide d'un tube en caoutchouc on fait communiquer le vase V_1 avec C, on remplit T et V_1 avec du mercure. On relie B avec E au moyen d'un tube court en caoutchouc et ensuite par le robinet R_1, T avec B. On abaisse le vase V_1 pour introduire la solution dans le vase V_2 en ouvrant le robinet R_2.

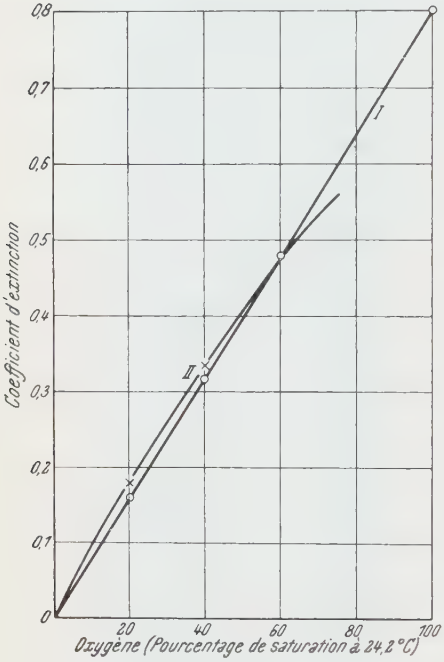


Fig. 5. Courbe d'étalonnage.
Epaisseur de cuvette: 17 mm; Volume de cuvette: 25,5 ml; Echantillon pris: 5 ml.
I: Réactif: Mn 40 ppm, Formaldoxime 1 ml/50 ml ou 10 ml/50 ml.
II: Réactif: Mn 4 ppm, Formaldoxime 1 ml/50 ml.

La solution qui pénètre dans le tube T est d'abord plus ou moins colorée, mais après quelques essais d'élévation et d'abaissement du vase V_1 on obtient une solution claire et complètement décolorée. Lorsque se produit quelque contamination de l'air introduit dans le tube T par hasard, il est éliminé par le tube A.

T ayant été rempli de la solution décolorée, on ferme les robinets R_1 et R_2; on enlève de C le vase V_1 avec le tube en caoutchouc. On fait communiquer le récipient de l'échantillon avec C à l'aide d'un tube en caoutchouc, on ouvre les robinets R_1 et R_3, on introduit 5 ml de l'échantillon dans T soigneusement pour ne pas mélanger le contenu. La solution décolorée étant plus légère que l'eau ordinaire, on peut faire pénétrer l'échantillon couche par couche sans difficulté. On ferme les robinets R_1 et R_3 et on enlève de C le récipient de l'echantillon. Après avoir mélangé le contenu du tube T à l'aide du morceau de verre, on en mesure la densité optique au moyen d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde 475 mμ ou bien on compare la coloration avec les solutions-standards qu'on prépare employant diverses quantités de manganèse. La coloration maxima se produit en 5 minutes et elle demeure constante pendant plus d'une heure.

Courbe d'étalonnage.

On peut construire une courbe d'étalonnage employant 5 ml d'eau dont la teneur en oxygène est variée (de zéro à complète saturation). Cela étant ennuyeux et difficile à exécuter, il suffit de mesurer la densité optique en utilisant diverses quantités d'eau saturée à une température fixée, par exemple, la densité optique pour l'eau à 20% de saturation peut être obtenue en introduisant 1 ml d'eau saturée d'oxygène au lieu de 5 ml d'eau à 20% de saturation. Nous donnons la courbe d'étalonnage lorsqu'on emploie 5 ml d'eau comme échantillon (Fig. 5).

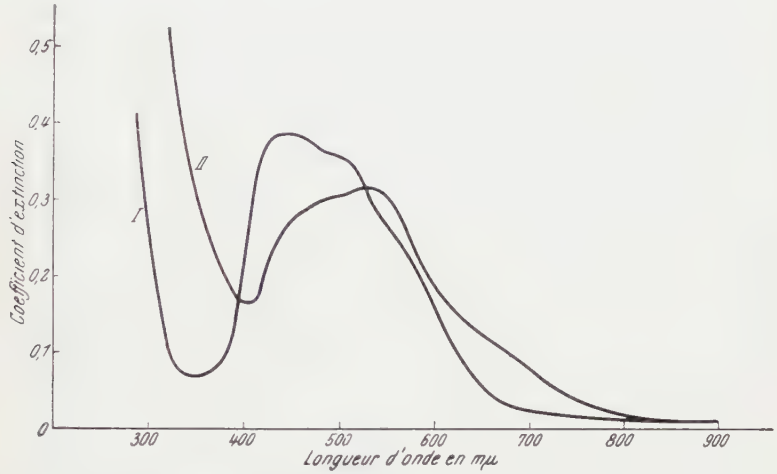


Fig. 6. Spectre d'absorption de la Mn-Formaldoxime (I) et de la Fe-Formaldoxime (II). Métal: 40 μmoles/l, Cuvette: 10 mm.

Influences des matières étrangères.

Les influences des matières étrangères sont données dans le Tableau I. Le fer ferrique est la seule matière gênant cette méthode, la courbe d'absorption du dérivé ferrique de la formaldoxime ressemblant à celle du dérivé manganique comme on voit dans la Fig. 6. Mais il est bien entendu que la teneur en fer ferrique ne dépasse pas souvent 1 mg par litre dans les eaux naturelles.

Nous réaffirmons ici que les matières faisant obstacle dans la méthode de *Winkler*, nitrate, nitrite, fer ferreux et matières organiques n'interfèrent pas avec la méthode que nous préconisons.

On ne peut appliquer directement cette méthode dans la recherche océanographique puisqu'on doit modifier plus ou moins la composition du réactif pour ne pas faire précipiter le magnésium contenu en quantité considérable dans l'eau de mer.

Tableau I. Effets de diverses matières.

Matières examinées	Quantité en mg/l	Erreur
Azote nitreux	1	0
Azote nitrique	10	0
Aluminium	10	0
Fluorure	10	0
Phosphate	10	0
Manganèse (bivalent)	10	0
Fer (bivalent)	30	0
Calcium	200	0
Magnésium	400	0
Fer (trivalent)	0,5	0
	1	+ 0,15 ml*
	10	+ 1,5 ml*
Matières organiques (extrait des aiguilles du pin)	82**	0

* Exprimé en ml d'oxygène par litre.

** Exprimé en mg de consommation de permanganate de potassium par litre.

Exemple d'analyse.

Donnons ci-dessous quelques exemples d'analyse par cette méthode:

Tableau II. Exemples d'analyse.

Echantillon	Oxygène en ml/l		Note
	Gazométrie de *Winkler*	Notre méthode	
Eau distillée	5,93	5,90	Eau à 100% de saturation à 24,3° C
		5,92	
		5,95	
Eau douce de l'Université de Nagoya	8,05	8,08	pH 9,9
		8,03	
Eau salée du lac Aburagafuchi (Préfecture d'Aichi)	6,25	6,0*	Cl 0,07 g/l
	5,26	5,0*	Cl 0,18
	0,48	0,5*	Cl 5,75
	0,0	0,0*	Cl 5,93

* Résultats obtenus par la comparaison visuelle employant les solutions-standards.

Les résultats de notre méthode coïncident avec ceux obtenus par une modification[24] de la gazométrie de *Winkler*[25].

Nous ne voulons pas manquer, au terme de cet exposé, de témoigner notre profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur *K. Sugawara* qui n'a cessé de nous encourager pendant cette recherche.

Résumé.

Nous avons présenté une nouvelle méthode de dosage colorimétrique de l'oxygène dissous dans l'eau. Cette méthode est basée sur la réaction de la solution décolorée de manganèse-formaldoxime. La réduction de la solution du dérivé manganique de la formaldoxime est exécutée avec succès à l'aide de la poudre de zinc. Les appareils peuvent être construits facilement et tous les réactifs nécessaires sont d'usage courant. La coloration est stable et les matières comme nitrate, nitrite, fer ferreux, matières organiques etc. ne font pas obstacle dans cette méthode.

Zusammenfassung.

Eine neue Methode der kolorimetrischen Bestimmung von in Wasser gelöstem Sauerstoff wird angegeben. Sie beruht auf der Reaktion einer entfärbten Lösung von Mangan(I)-Formaldoxim mit Sauerstoff. Die Reduktion einer Mangan(II)-Formaldoxim-Lösung läßt sich mit Hilfe von Zinkpulver gut durchführen. Der dazu nötige Apparat ist leicht herstellbar, die dazu erforderlichen Reagenzien von üblicher Qualität. Die bei der Reaktion entstehende Färbung ist stabil. Nitrat, Nitrit, zweiwertiges Eisen, organische Substanzen usw. stören die Methode nicht.

Summary.

A new method is given for the determination of oxygen dissolved in water. This colorimetric method uses the decolorized solution of manganese-formaldoxime. The reduction of the solution of the manganic derivative of formaldoxime is successfully accomplished by means of zinc powder. The apparatus is easily constructed and all the needed reagents are readily available. The color is stable and no interference arises because of the presence of such materials as nitrate, nitrite, iron (II), organic matter, etc.

Bibliographie.

[1] *L. W. Winkler*, Ber. dtsch. chem. Ges. **21**, 2843 (1888).

[2] *H. W. Stone* et *P. Sigal*, Analyt. Chemistry **26**, 1236 (1954).

[3] *O. P. Oparina* et *O. V. Mityagina*, Gidrokhim. Materialy, Akad. Nauk S. S. S. R. **20**, 92 (1953); Chem. Abstr. **48**, 10962 (1954).

[4] *R. Pomeroy* et *H. D. Kirschman*, Analyt. Chemistry **17**, 715 (1945).

[5] *S. Bairstow, J. Francis* et *G. H. Wyatt*, Analyst **72**, 340 (1947).

[6] *M. L. Johnson* et *R. J. Whitney*, J. Exper. Biol. **16**, 56 (1939).

[7] *E. H. Winslow* et *H. A. Liebhafsky*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **18**, 565 (1946).

[8] *F. R. Brooks, M. Dimbat, R. S. Traeder* et *L. Lykken*, Analyt. Chemistry **24**, 520 (1952).

[9] *S. Hirano* et *M. Kitahara*, J. Chem. Soc. Japan, Ind. Chem. Sect. **56**, 325 (1953).

[10] *M. L. Isaacs*, Sewage Works J. **7**, 435 (1935).
[11] *K. Binder* et *R. F. Weinland*, Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 255 (1913).
[12] *W. G. Exton* et al., J. Lab. Clin. Med. **30**, 84 (1945).
[13] *L. J. Brady*, Analyt. Chemistry **20**, 1033 (1948).
[14] *J. A. Shaw*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **14**, 891 (1942).
[15] *H. A. White*, J. Chem. Met. Mining Soc. S. Africa **18**, 292 (1918).
[16] *D. D. Williams*, *C. H. Blanchly* et *R. R. Miller*, Analyt. Chemistry **24**, 1819 (1952).
[17] *L. W. Winkler*, Z. angew. Chem. **24**, 341 (1911).
[18] *L. W. Winkler*, Z. angew. Chem. **26**, 134 (1913).
[19] *W. F. Loomis*, Analyt. Chemistry **26**, 402 (1954).
[20] *H. Rotchild* et *I. M. Stone*, J. Inst. Brewing **44**, 425 (1938).
[21] *K. A. Hoffmann* et *U. Ehrhardt*, Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 1457 (1913).
[22] *G. Dénigès*, Manuel de Chimie Analytique, 4e éd., p. 161.
[23] *E. Kahane*, Ann. chim. anal. **17**, 175 (1935).
[24] *K. Sugawara*, *T. Koyama* et *S. Oana*, Travail inédit.
[25] *L. W. Winkler*, „Trink- und Brauchwasser" in *Lunge-Berl*, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 7e éd., vol. I. Berlin: J. Springer. p. 573.

Aus dem Max-Planck-Institut für Eisenforschung, Düsseldorf, Deutschland.

Über die Verwendung disubstituierter Dithiocarbamate in der Mikroanalyse. IV.

Von

H. Malissa und **E. Schöffmann***.

(Eingelangt am 3. Oktober 1955.)

Im Verlaufe früherer Untersuchungen[1] stellten wir fest, daß eine Anzahl von Elementen mit verschiedenen Carbamaten stöchiometrisch zusammengesetzte Organometallverbindungen geben. Dieser Umstand, zusammen mit der Tatsache des hohen Molekulargewichtes der Carbamate und der leichten Handhabung dieser Reagenzien, ließen mikrogravimetrische Untersuchungen hoffnungsvoll erscheinen. *H. Bode*[2] stellte durch Extraktion der Metall-Carbamatverbindungen mit organischen Lösungsmitteln und nachfolgender photometrischer Auswertung fest, daß Thallium(I) und Silber je ein Mol Carbamat, Kupfer, Zink, Cadmium, Quecksilber, Blei und Palladium je zwei Mole und Thallium(III), Antimon, Wismut und Mangan je drei Mole Carbamat binden. *E. Bremanis*, *L. Schaible* und *R. Bergner*[3] verwendeten Diäthyl- und Piperidindithiocarbamat zur gravimetrischen Bleibestimmung und fanden ebenfalls, daß sich das Blei mit zwei Molen Carbamat verbindet.

In Tabelle 1 sind die Zusammensetzungen einiger von uns untersuchter Metallcarbamatverbindungen angeführt. Die sich daraus ergebenden Umrechnungsfaktoren für die verschiedenen Metalle sind in Tabelle 2 zusammengefaßt, die zum Vergleich noch die Umrechnungsfaktoren sonst gebräuchlicher Fällungsreaktionen der betreffenden Elemente aufweist. Man sieht daraus, daß die Carbamate bei der gravimetrischen Bestimmung des Eisens, Kupfers, Nickels, Indiums und Silbers die bislang günstigsten Umrechnungsfaktoren ergeben, wenn man von den weniger gebräuchlichen gravimetrischen Bestimmungsmethoden ab-

* Gegenwärtige Anschrift: Niederrheinische Hütte AG., Duisburg-Hochfeld.

sieht. Ob und wie diese durch Einführen höher molekularer Substituenten in das Carbamatmolekül noch verbessert werden können, wird, ebenso wie das Verhältnis von Metall zu Carbamat bei anderen Elementen, noch untersucht.

Tabelle 1.

Element		C %	H %	S %	Metall %	Verhältnis Carbamat:Metall
Silber	berechnet	23,4	3,9	25,1	42,12	1 : 1
	gefunden	23,5	4,1	24,9	41,92	
Nickel	berechnet	33,9	5,7	36,2	16,47	2 : 1
	gefunden	34,1	5,8	36,1	16,39	
Kupfer	berechnet	33,3	5,6	35,6	17,66	2 : 1
	gefunden	33,6	5,7	35,6	17,67	
Kobalt	berechnet	35,8	6,0	38,2	11,73	3 : 1
	gefunden	35,5	5,9	38,0	11,77	
Eisen	berechnet	36,0	6,0	38,4	11,17	3 : 1
	gefunden	35,1	5,9	37,8	11,17	
Chrom	berechnet	36,3	6,0	38,7	10,4	3 : 1
	gefunden	36,6	6,2	38,2	9,9	

Tabelle 2.

Element	Umrechnungsfaktor	
	Metallcarbamat	sonstige Verbindungen
Silber	0,4212	0,7526 als AgCl
Eisen	0,1117	0,6990 als Fe_2O_3
Kupfer	0,1766	0,1894 als Kupfer-Salicylaldoxim-Verbindung
Kobalt	0,1173	0,0964 als Kobalt-α-Nitroso-β-naphthol-Verbindung
Nickel	0,1647	0,2032 als Nickel-Dimethylglyoxim-Verbindung
Blei[3]	0,4113	0,2725 als Bleipicrolonat
Indium[4]	0,2050	0,8270 als In_2O_3

Die gravimetrischen Bestimmungen wurden vorerst an reinen Lösungen der entsprechenden Elemente überprüft. Die Bestimmungen wurden so durchgeführt, daß die betreffenden Elemente aus wäßrigen Lösungen, deren Gehalt vorher mit anderen Methoden überprüft wurde, mit einer 10%igen wäßrigen Lösung von Natriumdiäthyldithiocarbamat gefällt wurden. Vor der Fällung wurde durch Zugabe von 20%iger wäßriger Natriumtartratlösung auf p_H 6 eingestellt. Fällungstemperatur war

immer 40° C, außer bei der Silberbestimmung, die bei Zimmertemperatur durchgeführt wurde. Nach dem Abkühlen wurde durch einen gewogenen Glasfiltertiegel filtriert und mit aus Quarzgefäßen doppelt dest. Wasser gewaschen. Die nach diesem Verfahren erhaltenen Werte und die Trocknungstemperaturen der Metallcarbamatverbindungen sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3.

Element	vorgelegt mg	Trocknung bei °C	Auswaage mg	gefunden mg	Differenz mg
Silber	9,709	Vak. 20	23,07	9,717	+ 0,008
	9,709	„ 20	23,10	9,729	+ 0,020
	4,854	„ 20	11,56	4,869	+ 0,015
	4,854	„ 20	11,58	4,877	+ 0,023
Nickel	1,103	90	6,74	1,110	+ 0,007
	1,103	90	6,79	1,118	+ 0,015
	5,515	90	33,80	5,566	+ 0,051
	5,515	90	33,72	5,553	+ 0,038
Kobalt	1,000	90	8,38	0,987	+ 0,013
	1,000	90	8,44	0,992	+ 0,008
	1,000	90	8,37	0,984	+ 0,016
Eisen	2,014	100	18,16	2,012	— 0,002
	2,014	100	18,32	2,023	+ 0,009
	5,035	100	45,21	5,012	— 0,023
	5,035	100	45,35	5,034	— 0,001
	10,070	100	94,48	10,087	+ 0,017
	10,070	100	94,20	10,057	— 0,013
Kupfer	2,884	100	16,34	2,885	+ 0,001
	2,884	100	16,41	2,898	+ 0,014
	11,536	100	65,50	11,570	+ 0,034
	11,536	100	65,42	11,554	+ 0,018

Zusammenfassung.

In Fortsetzung der Arbeiten über die Verwendung von Dithiocarbamaten in der Mikroanalyse wird gezeigt, daß sich diese auch zur mikrogravimetrischen Bestimmung eignen.

Summary.

Pursuant to the studies of the use of dithiocarbamates in microanalysis it has been shown that they may also be used for microgravimetric determinations.

Résumé.

En complément à des travaux antérieurs sur l'emploi des dithiocarbamates en microanalyse, il est montré que ces composés sont également appropriés aux déterminations microgravimétriques.

Literatur.

[1] *F. Wever, W. Koch* und *H. Malissa*, Forschungsbericht Nr. 229 des Wirtschaftsministeriums des Landes Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf 1955 (im Druck); *H. Malissa* und *F. F. Miller*, Mikrochem. **40**, 63 (1952); *H. Malissa* und *E. Schöffmann*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 187.

[2] *H. Bode*, Z. analyt. Chem. **143**, 182 (1954).

[3] *E. Bremanis, L. Schaible* und *R. Bergner*, Z. analyt. Chem. **145**, 18 (1955).

[4] *V. Patrovsky*, Chem. Listy **48**, 1047 (1954); zit. nach Z. analyt. Chem. **145**, 55 (1955).

Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Química y Farmacia.
Cátedra de Toxicología y Química Legal.
Gabinete Químico de la Policía Federal, Buenos Aires, Argentina.

Investigación toxicológica de microcantidades de barbitúricos*.

Por

Omar A. Guagnini, Eugenio E. Vonesch, Agustín M. Fassi y Saul V. Guagnini.

(Recibido Agosto 12, 1955.)

La investigación toxicológica de los compuestos barbitúricos** tiene importancia práctica por la frecuencia de las intoxicaciones provocadas por estas sustancias. Presenta serios inconvenientes cuando se trata de microcantidades, ya que su aislamiento exige en tales circunstancias, aplicar técnicas exhuastivas, que separan simultáneamente gran cantidad de impurezas que interfieren en la identificación. Se debe someter el extracto obtenido a una purificación muy completa, con las consiguientes pérdidas. Es una condición importante aislar el compuesto barbitúrico con el máximo de pureza para aplicar con éxito las reacciones cromáticas de identificación, ya que son enmascaradas por muchas impurezas separadas conjuntamente con aquellos y por otra parte, no siendo específicas, interesa distinguirlas de diversas sustancias medicamentosas que producen coloraciones similares. En estas circunstancias son escasas las probabilidades de éxito.

En el presente trabajo se describe un método rápido y sencillo, aplicable a la investigación toxicológica, que permite con un mínimo de elementos comprobar en forma cualitativa la presencia de muy pequeñas cantidades de barbitúricos, descartando sus principales interferencias.

Los derivados barbitúricos ensayados fueron:

Veronal: Acido dietilbarbitúrico.
Nembutal: Acido etil-1-metilbutilbarbitúrico.
Dial: Acido dialilbarbitúrico.

---

* Presentado al III Congreso Panamericano de Farmacia y Bioquímica, Sao Paulo, Brasil, XII, 1954.

** El término "barbitúrico" se aplica aquí en general a todos los derivados de la malonilurea.

Allonal: Acido isopropilalilbarbitúrico.
Ortal: Acido etil-n-hexilbarbitúrico.
Medomine: Acido etilciclohepteniltiobarbitúrico.
Luminal: Acido feniletilbarbitúrico.
Pentotal: Acido etil-alfa-metilbutiltiobarbitúrico.

El proceso para la identificación de un compuesto barbitúrico comprende:

1. Extracción de los materiales biológicos.

La separación de los barbitúricos se efectúa habitualmente con un solvente adecuado, obteniéndose un extracto muy impurificado con grasas, ácidos grasos, colorantes, etc. El eter sulfúrico, que se utiliza en el clásico método de *Stass-Otto*, ha sido reemplazado en casos particulares por la acetona, beceno, acetato de etilo, mezclas de eter-cloroformo, etc., sin mayores ventajas[5,7,8,16,20].

En un estudio previo sobre la solubilidad de éstos compuestos, se ha encontrado ventajoso emplear metanol como solvente para extraer los barbitúricos, pues su carácter polar, unido a su bajo peso molecular, ha permitido obtener extractos fácilmente purificables. Si bien la solubilidad en el mismo no es muy elevada, desecando las vísceras con sulfato de sodio anhidro y empleando un aparato de extracción contínua, pueden separarse satisfactoriamente mínimas cantidades. La recuperación de 1 mg de barbitúrico agregado a diversos materiales biológicos oscila entre 96 y 105%, para los compuestos ensayados[4,10,20].

Con el empleo del metanol es posible demostrar rápidamente la presencia de un compuesto barbitúrico en una gota de contenido estomacal* depositada sobre una tira de papel de filtro, en el que por ascenso capilarimétrico con aquel solvente, se separa lo suficientemente purificado para efectuar "in situ", la reacción de *Parri-Koppanyi*, y descartar allí mismo las interferencias más importantes[9,12].

Cuando el aislamiento del barbitúrico ha sido efectuado con otros solventes, puede aplicarse la técnica propuesta, evaporando y tomando el residuo con metanol.

2. Purificación de los extractos.

La purificación de los extractos obtenidos, es un problema delicado, insume tiempo y se complica por la necesidad de realizarla a fondo para obtener resultados satisfactorios cuando la cantidad de sustancia disponible es pequeña[5,7,11,18].

Los ensayos efectuados para recuperar cantidades del orden de 100 μg de barbitúricos hicieron aconsejable eliminar los procedimientos

* El "contenido estomacal", se refiere al material proveniente de una autopsia y envasado en el frasco rotulado "estómago y su contenido".

por precipitación o por adsorción de impurezas, debido a las pérdidas notables que pueden ocasionar. Los procedimientos por pasaje a través de columnas de sílice o alúmina activada son eficientes, aunque algo complicados por el tiempo insumido y el manipuleo excesivo[8,10,11]; en cambio los procedimientos cromatográficos parecían más adecuados[1,8,13].

Finalmente se adoptó una técnica capilarimétrica, basada en el ascenso de metanol puro en un tira de papel de filtro donde se ha evaporado cierta cantidad de la solución del barbitúrico. En estas condiciones, el metanol disuelve a dichos compuestos, los arrastra hacia arriba separándolos de otras impurezas que también se desplazan. El procedimiento presenta grandes ventajas por su sencillez. La operación se realiza sumergiendo el extremo de la tira de papel de filtro donde se ha evaporado el extracto de barbitúrico, en el metanol contenido en un vaso de precipitados, dejando que el ascenso del líquido se produzca hasta una altura no mayor de 10 cm de alto. La clase de papel empleado tiene importancia, los mejores resultados fueron obtenidos con papel Whatman especial para pruebas a la gota, si bien el Whatman No. 1, 4, 42 y 50, también son adecuados.

Los corrimientos obtenidos con las soluciones metanólicas puras de barbitúricos, comparados con los correspondientes a los mismos en extractos de vísceras, destacan la influencia notable que ejercen las impurezas de dichos extractos, impidiendo obtener resultados reproducibles. El procedimiento queda restringido por lo tanto a un método de purificación general, sin que pueda aplicarse para la individualización de un determinado barbitúrico. En general, la zona donde se concentran éstos compuestos, ocupa una posición intermedia entre el límite de la zona impregnada por el solvente en su ascenso y el de un grupo de impurezas que corren más lentamente que los barbitúricos. La purificación con este procedimiento permite efectuar sobre el mismo papel las reacciones cromáticas destinadas a la identificación preliminar de este grupo de sustancias.

3. Identificación preliminar.

La identificación preliminar de los compuestos barbitúricos, con reactivos de grupo mediante reacciones cromáticas es un paso importante de la investigación toxicológica. Las más utilizadas se basan en la formación de compuestos coloreados de cobalto para los barbitúricos y tiobarbitúricos, y en los complejos cúpricos para los tiobarbitúricos[2,3,9,12,14,18,20]. Estas reacciones son enmascaradas por las impurezas que acompañan los compuestos barbitúricos al separarlos de los materiales biológicos; también pueden ser confundidos por coloraciones similares producidas por algunos medicamentos separados simultaneámente.

La reacción de *Parri*[12], en sus diversas modificaciones[9,11], es una de las más sensibles y al mismo tiempo muy delicada pues a lo dicho anteriormente debe agregarse las molestias causadas por la coloración propia de la sal de cobalto empleada, que toma diversas tonalidades (azules, rosadas o violadas) según el grado de hidratación en que se encuentra; esto exige operar en medio anhidro. Desde hace años hemos ejecutado la reacción de *Parri* y *Koppanyi*, sobre vidrio de reloj, empleando etanol absoluto y haciendo llegar vapores de amoníaco sobre la superficie del líquido, con lo que se logra una mayor seguridad en los resultados. *Fabre*[11] aconseja realizar la reacción en cápsula de porcelana basado en el mismo principio.

Se ha utilizado la reacción de *Parri* sobre papel, empleando el reactivo de *Koppanyi*, acetato de cobalto, más diluido y disuelto en metanol común. En estas condiciones la zona de concentración de los compuestos barbitúricos, presenta coloración violeta o azul violada característica, lo suficientemente visible a la luz natural para obtener resultados positivos con 10 μg de estas sustancias. Con menores cantidades en las condiciones indicadas, los resultados son dudosos o negativos. Las impurezas existentes en los extractos metanólicos no interfieren, siendo la sencillez operativa la ventaja característica de esta técnica. Las sulfadrogas[2] y la fenolftaleína reproducen la reacción con tonalidades diversas[17]. La fenolftaleína se descarta previamente haciendo actuar el amoníaco gaseoso sobre el papel, donde se efectúa el corrimiento; se obtiene coloración rosada en ausencia de sal de cobalto. Se delimita la zona coloreada y evapora el amoníaco con suave calor; haciendo la reacción de *Parri* se puede obtener resultados positivos en otras zonas del papel, ello indicará la presencia de barbitúricos, sulfadrogas u otras interferencias. Sobre el mismo papel puede comprobarse la presencia de sulfadrogas, agregando solución diluida de orto-naftoquinon-4-sulfonato de sodio[19]. La coloración propia de la reacción de *Parri* se mantiene, si se trata de barbitúricos, y desaparece, siendo reemplazada por un color rojizo, cuando existen sulfadrogas[6]. Cabe recordar que el ácido para-amino-salicílico y los anestésicos arilamínicos primarios, dan igualmente coloración roja con el orto-naftoquinon-4-sulfonato de sodio, pero no la reacción de *Parri* y *Koppanyi*. Las sulfadrogas que dan reacción positiva con el orto-naftoquinon-4-sulfonato de sodio, son las que tienen función arilamínica primaria[19]. Las sulfadrogas ensayadas fueron: sulfanilamida, sulfatiazol, sulfaguanidina, sulfapiridina, sulfacetamida y sulfadiacina.

4. Identificación confirmatoria y valoración.

La identificación confirmatoria y la valoración de los barbitúricos exigen disponer de mayores cantidades de estos compuestos que las

necesarias para la técnica expuesta en este trabajo. Las otras reacciones coloreadas carecen de la sensibilidad de la de *Parri*, son positivas con cantidades superiores a 50 μg, por lo tanto, el hecho de obtener una reacción de *Parri* positiva, no permite confirmarla con otras reacciones cromáticas, si la cantidad aislada es inferior a 50 μg. Por otra parte las microcristalizaciones de estos compuestos, no presentan condiciones satisfactorias de especificidad, habiendo sido poco alentadores los ensayos efectuados para obtener microcristales con estos derivados, partiendo del trozo de papel donde se ha revelado su presencia, ya que la sal de cobalto, existente, cristaliza en estas condiciones dejando serias dudas sobre la naturaleza de los cristales formados en los bordes de la preparación[2,15].

Es aconsejable, por el momento, limitar la utilidad de la técnica propuesta al reconocimiento cualitativo de barbitúricos. En caso de obtener resultados positivos, deberá intentarse el aislamiento de mayores cantidades para obtener resultados positivos, con otras reacciones cromáticas o para el estudio del *Rf* de cada uno de ellos[13,18].

Parte experimental.

Reactivos: 1. Solución metanólica reciente de acetato de cobalto al 5‰ y conservada en heladera.

2. Solución metanólica fresca de orto-naftoquinon-4-sulfonato de sodio al 1 por mil.

3. Amoníaco concentrado.

4. Metanol puro; no necesariamente absoluto.

5. Papel de filtro Whatman para "spot test", cortado en tiras de 6 a 8 mm de ancho por 150 mm de largo, aproximadamente.

Aparato: Extractor continuo para materiales sólidos, tipo *Soxhlet*, *Fassi* o similares.

Técnica. Obtención de los extractos metanólicos: Tratándose de vísceras se procede a su homogenización, acidificación con ácido tartárico, desecación con sulfato de sodio anhidro y extracción en aparato continuo, primeramente con eter de petroleo, y luego con metanol[4].

Las muestras de sangre, previo desecado en las mismas condiciones, pueden ser colocadas en un microextractor y extraídas directamente con metanol. Cantidades pequeñas se recogen sobre papel de filtro, desecan y extraen con metanol acidificado con ácido acético o clorhídrico. El extracto metanólico se evapora para eliminar los ácidos y redisuelve en metanol.

Muestras de orina acidificadas con ácido tartárico son extraídas con eter. Se evapora el solvente y retoma con metanol.

Reconocimiento: Evaporar sucesivas gotas del extractivo metanólico sobre una tira de papel de filtro -5-. Sumergir el extremo de la tira

puesta verticalmente en metanol colocado en un vaso de precipitados y dejar ascender el líquido por capilaridad. El solvente debe ascender de 5 a 8 cm por encima de la mancha depositada. Desecar el papel. Impregnarlo con la solución de acetato de cobalto en forma de aerosol y desecar con suave calor evitando sobrecalentamientos. El papel debe quedar prácticamente blanco. Exponerlo a los vapores de amoníaco y observar con luz natural. Una zona o banda de color violeta-rojizo indica la presencia probable de barbitúricos. Si la mancha es extendida, se vuelve a efectuar un nuevo corrimiento con metanol, hasta sobre pasar la zona coloreada. Se repite la reacción cromática, desecando, impregnando con acetato de cobalto, desecando y exponiendo a los vapores de amoníaco. Carecen de valor, la coloraciones azules, violadas o rojizas que aparecen en el límite superior alcanzado por el metanol; ellas corresponden a una mayor concentración de acetato de cobalto arrastrado por el solvente.

La coloración obtenida en estas condiciones desaparece al eliminarse el amoníaco, pero reaparece al exponerlo nuevamente a los vapores alcalinos. Muestras conservadas en el ambiente durante diez meses, reproducen la reacción original.

Otros materiales: Sobre el contenido gástrico o en el material del frasco "estómago y su contenido", la técnica se presenta extraordinariamente sencilla, siempre que las cantidades de barbitúricos sean superiores al límite de sensibilidad indicado anteriormente. Se procede de la siguiente manera: Colocar una gota de este material (ácido) sobre uno de los extremos de una tira de papel de 10 a 20 mm de ancho y desecar a calor suave. No tiene importancia la presencia de material sólido. Realizar un corrimiento capilarimétrico con metanol contenido en un vaso de precipitados; dejar ascender el líquido de 8 a 10 cm y revelar la presencia de los barbitúricos con la técnica establecida.

Conclusiones.

1. Se propone una técnica que permite la investigación toxicológica cualitativa, de pequeñas cantidades de barbitúricos en vísceras, sangre y otros materiales biológicos, cuya sensibilidad es del orden de 10 a 50 μg.

2. Se basa en la obtención de extractos metanólicos de los materiales desecados con sulfato de sodio anhidro y extraídos en extractor continuo, los que se purifican por ascenso capilarimétrico con metanol sobre papel de filtro.

3. La reacción de *Parri* y *Koppanyi* modificada, se practica directamente sobre el mismo papel, con la ventaja de aplicarse además allí mismo, reacciones cromáticas de sustancias interferentes.

4. La técnica presenta ventajas por su simplicidad y rapidez.

Expresamos nuestro agradecimiento a la Dra. *N. Roberts*, del Laboratorio Toxicológico de Tribunales de la Provincia de Buenos Aires, por su apreciada colaboración.

Resumen.

Se ha estudiado la investigación cualitativa de microcantidades de barbitúricos en materiales biológicos. Se propone una técnica basada en la extracción de estos compuestos con metanol, purificación del extracto por ascenso capilarimétrico en papel de filtro y reconocimiento mediante la reacción de *Parri y Koppanyi*. Se consideran las interferencias y las condiciones particulares del trabajo sobre vísceras, sangre y orina. El límite de identificación de la técnica llega a 10 μg y representa un método económico en cuanto a tiempo y material.

Zusammenfassung.

Der qualitative Nachweis von Mikromengen von Barbituraten in biologischem Material wurde studiert. Zu diesem Zweck wird eine Arbeitstechnik vorgeschlagen, die auf der Extraktion dieser Verbindungen mit Methanol, der nachfolgenden Reinigung des Extraktes durch aufsteigende Papierchromatographie und Identifizierung mit Hilfe der Reaktion nach *Parri* und *Koppanyi* beruht. Störende Einflüsse und die besonderen Bedingungen der Anwendung der Methode auf Eingeweide, Blut und Harn wurden untersucht. Die Erfassungsgrenze des beschriebenen Verfahrens erreicht 10 μg. Es ermöglicht Zeit- und Materialersparnis.

Summary.

A study was made of the qualitative detection of micro amounts of barbiturates in biological materials. A procedure is suggested based on extraction of these compounds with methanol, followed by purification of the extract by ascending paper chromatography, and identification with the aid of the *Parri* and *Koppanyi* reaction. The interferences and the special conditions of applying the test to viscera, blood, and urine were studied. The identification limits of the procedure is 10 μg. The method saves time and material.

Résumé.

Etude de l'identification qualitative de microquantités de barbituriques dans les milieux biologiques. A cette fin on recommande une technique opératoire qui comporte une extraction de ces composés dans le méthanol, une purification consécutive de l'extrait par chromatographie ascendante sur papier et une identification par la réaction de *Parri* et *Koppanyi*. On a étudié les influences gênantes ainsi que les conditions particulières d'emploi de la méthode pour les viscères, le sang et l'urine. Sa limite de sensibilité est de 10 μg; elle permet d'épargner du temps et du matériel.

Bibliografía.

[1] *E. Barilari*, Ciencia e Investigación **10**, 424 (1954).
[2] *G. Beck*, Mikrochem. **29**, 206 (1941).
[3] *S. L. Cowan*, Citado por *Raventos*[14].
[4] *A. M. Fassi*, Rev. asoc. bioquím. Argentina **19**, 78 (1954).
[5] *H. Griffon* y *R. Le Breton*, J. pharm. chim. **28**, 49 (1938).
[6] *O. A. Guagnini*, Comunicación personal.
[7] *E. Kohn Abrest*, Precis de toxicologie, 2da Ed. París. 1948.
[8] *H. Kondo*, J. Pharm. Soc. Japan **57**, 218 (1937).
[9] *T. Koppanyi*, *W. S. Murphy* y *S. Kropp*, Proc. Soc. Exper. Biol. **31**, 373 (1933).
[10] *W. Y. Levy*, Citado por *Bamford*, Poison, 1ra Ed. pag. 252 (1948).
[11] *M. Mascre*, *G. Maillard* y *J. Loiseau*, Bull. Pharmacol. **47**, 282 (1940).
[12] *W. Parri*, Boll. chimico farmaceutico **63**, 401 (1924).
[13] *J. Raventos*, Brit. J. Pharm. **1**, 10 (1946).
[14] *J. Raventos*, J. Pharm. Pharmacol. **6**, 217 (1954).
[15] *A. L. Remezzano*, Rev. med. ciencias afines. **5**, 868 (1942).
[16] *E. E. Rodhdestvenskaya*, Farmatsiya **4**, 1 (1938).
[17] *C. Steiner*, J. pharm. Belg. **5**, 26 (1950).
[18] *G. Turfitt*, Quart. J. Pharmac. **31**, No 1 (1948).
[19] *E. E. Vonesch* y *P. Velasco*, Archivos de Farm. y Bioq. Tucuman. **1**, 241 (1944).
[20] *L. E. Warren*, J. Assoc. Off. Agric. Chemists **25**, 759 (1942).

Department of Biochemistry and Virus Laboratory University of California, Berkeley 4, Cal.

Determination of Oxygen Uptake by Tissue Grown in an All Glass Differential Microrespirometer*.

By

Benjamin W. Grunbaum, Benjamin V. Siegel***, Arthur R. Schulz, and Paul L. Kirk.**

With 5 Figures.

(Received, July 10, 1955.)

In metabolic studies of animal cells grown in culture, the respiratory aspects present difficulties of analysis because of the slight amounts of respiration generally obtained. The conventional Warburg apparatus requires large numbers of cells and is even then insufficiently sensitive to detect the small changes in pressure. The differential microrespirometer designed by *Stern* and *Kirk*[1], although very sensitive, is inadequate because it does not permit direct cultivation of the cells to be studied. Cells must first be grown in glass flasks and then transferred to the instrument for respiration measurements. This transfer always requires rather drastic conditions including trypsin treatment to remove the cells from the glass surface and several washings of the trypsin-treated cells. Many cells are lost in this way, and the remainder do not respire normally.

To permit accurate measurement of respiration of actively growing cells *in vitro*, an all-glass respirometer, Fig. 1, was designed. This apparatus made it possible to grow the cells directly in the respirometer flasks and to avoid drastic transfers. The design of the system was based

* This investigation was supported in part by grants from the National Institute of Health, U. S. Public Health Service, and the University of California Committee on Research.

** Present address: 180 Lyon Laboratories, University of Minnesota, Minneapolis.

*** Fellow of the National Foundation for Infantile Paralysis at the University of California, 1953–1954.

on that of the differential volumeter originally constructed by *Thunberg*[2] as a demonstration model. *Winterstein*[3] and *Widmark*[4] later modified this model for research purposes, and *Fenn*[5] further improved the apparatus for measuring the respiration of nervous tissue. The modifications introduced in the present instrument include the elimination of the two stopcocks in *Fenn*'s design; the connection to the atmosphere is accomplished through short horizontal capillaries at the ends of the connecting capillary tube, Fig. 1. To allow greater surface for cell proliferation and still maintain a high sensitivity, the flasks were constructed to give a high ratio of bottom surface area to total volume. Alkali-soaked filter paper attached to a glass projection extending into the reaction flask was employed for the absorption of carbon dioxide, whereas *Fenn* placed a flask with the absorbent into the flask containing the respiring sample.

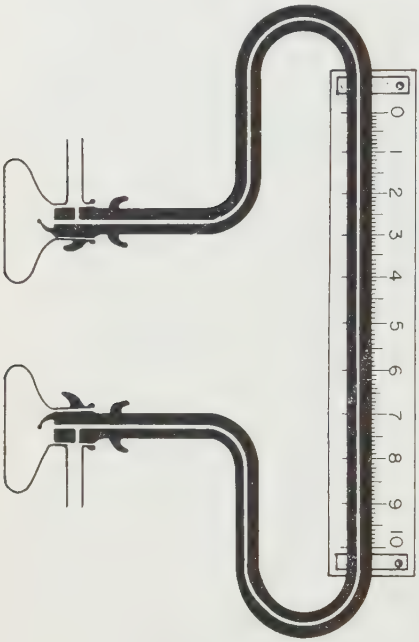


Fig. 1. All-Glass Differential Microrespirometer.

Constant temperature of the system is maintained by immersion in a water bath kept in a walk-in incubator room; this permits an all-glass construction instead of the metal block featured in the design of *Stern* and *Kirk*[1]. To demonstrate the usefulness and sensitivity of the instrument, experiments were carried out with *Escherichia coli* bacteria and mouse brain homogenates in addition to tissue respiration studies.

Experimental.

Apparatus. Fig. 1 shows the respirometer which consists of a connecting capillary and two vessels. One of these vessels serves as the control or compensation chamber for the other in which tissue is grown.

The diameter of the capillary ranged from 0.3 to 0.7 mm depending upon the anticipated amount of oxygen uptake. The capillary was ground at both ends to fit the vessels. Threads were drawn at both ends of the capillary, melted to form a small enlargement, and bent slightly. Paper disks were made with a paper punch, slit, and pushed over the ends of

the glass projections which held them in a horizontal position during the determination. Alkali was applied after positioning the disks.

A 10-cm scale divided into 200 equal divisions was attached to the capillary by means of clips applied at the ends of the scale. The vessels had flat bottoms of 3-cm diameter. The ground joints were held tightly together by means of rubber bands or springs.

Calibration. The respirometer capillary was calibrated by drawing a thread of mercury into the bore. After measuring its length on the respirometer scale, the thread was carefully removed and weighed for the computation of the cross section area. The volumes of the respiration and compensation flasks were also determined with the use of mercury. The change in volume is given by $K \cdot h$ where h is the distance covered by the index droplet and the proportionality factor is derived from the equation

$$K = \frac{273}{T}\left(\frac{P - P_w}{P_0}\right) A \left(\frac{V_g}{V_g'} + 1\right)$$

in which T = temperature (absolute),
P = atmospheric pressure (mm Hg),
P_w = vapor pressure of water at T (mm Hg),
P_0 = standard atmospheric pressure (mm Hg),
A = cross section area of capillary bore,
V_g = volume of respiration chamber, and
V_g' = volume of compensation chamber.

The calibration of the respirometer capillary and vessels with mercury was checked by reacting in one vessel a known amount of sodium bicarbonate with excess acid. Very good agreement was observed.

Operation. The assembly of the respirometer unit as well as the actual measurement of oxygen uptake were all carried out in a walk-in incubator room at 37° C containing a stirred water bath. Fig. 2 shows that the temperature changes at any point of the water bath and over 6 or more hours were negligible compared with the rather large variation in the temperature of the incubator room. The temperature of the water bath was always about two degrees lower than that of the room because of the cooling effect of evaporation. Use of the compensating chamber and the high heat capacity of the water combined to make the operation independent of minor temperature variations of the room.

The respirometer unit was assembled as follows. A droplet of redistilled kerosene in the connecting capillary served as indicator. It was added from a capillary slightly smaller in diameter than the horizontal bore on the ground end of the respirometer capillary. The scale was clipped on the capillary, and the zero mark was aligned with a permanent mark on the capillary. The ground glass connections were lubricated with

silicone grease. Filter paper disks were forced on both glass hooks, and the capillary was suspended by means of a two-finger prong. 10 μl of 10 percent potassium hydroxide were added to the paper disk in the control vessel containing growth medium. The control vessel was then firmly attached to the capillary. A rubber band or spring was stretched between the hooks to secure the joint. The vessel containing the testing material was attached in the same manner. At this point, the side arms of either vessel were pointing away from each other so that atmospheric pressure existed on both sides of the kerosene droplet. The whole unit

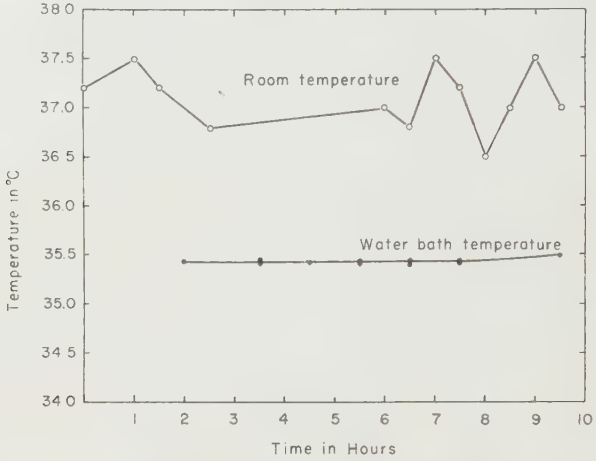


Fig. 2. Temperature of Water Bath Compared to Room Temperature in a Walk-In Incubator.

was then tilted to bring one end of the index droplet to coincide with the second or third centimeter on the scale. Each vessel was then rotated around its axis for 90 or more degrees, and the whole unit was slowly lowered into the water bath to a point slightly below the side arm.

Results.

Strain HeLa Cells. The sterile vessels were initially seeded with 1 ml of a growth medium composed of 48 percent human adult serum (HAS), 2 percent chick embryonic extract (EE), 50 percent Hank's (H) balanced salt solution[6], and approximately 100000 cells. After 7 days of cultivation, the medium was removed, replaced with 0.5 ml of a fresh maintenance medium (HAS-40, H-60), and the respiration measured by the procedure described. At the termination of the experiment, the cultures in the flasks were agitated for 30–60 minutes in 0.1 percent trypsin at 37° C to break the cellular clumps and disperse the cells. Counts were made by microscopic enumeration in a Neubauer chamber. The

results of a typical experiment, in which the cell number was 400000, are shown in Fig. 3. As is evident from the curve, the rate of oxygen consumption by the HeLa cells was constant during the 4 hour period of measurement.

Escherichia coli B cells. The initial bacterial cell culture in a minimal salt-glycerol medium was shaken overnight at 30° C. The cells were then washed twice with physiological saline and suspended in sufficient minimal salt medium to give, when diluted 1 : 10, a reading of approximately 45 in a Klett photoelectric colorimeter with green filter. 0.5 ml of the

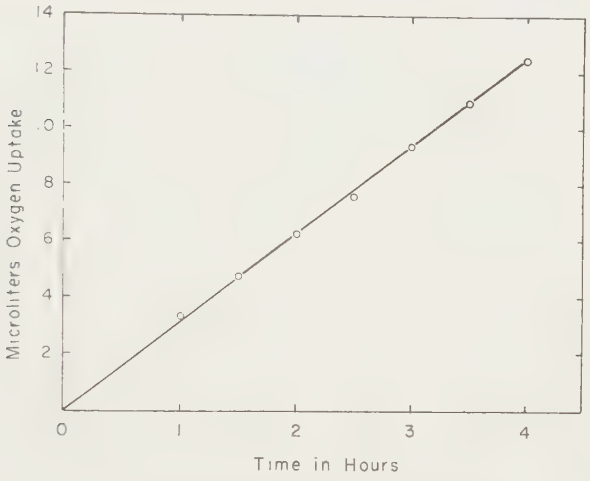


Fig. 3. Oxygen Uptake by HeLa Cells.

suspension was added to each of 4 flasks and brought to a final volume of 0.6 ml with different concentrations of glucose or with minimal salt medium in the instance of the control. The rates of respiration were constant with a given concentration of substrate, and greater at higher concentrations as shown in Fig. 4.

Mouse Brain Homogenates. Fig. 5 shows the results of respiration measurements of mouse brain homogenates in the presence and absence of glucose. Two Webster-strain white mice, approximately 5 weeks old, were killed by cervical fracture and the brains immediately removed to an iced beaker. Homogenates were prepared by means of a *Potter-Elvehjem*[7] homogenizer in 2 ml of ice-cold isotonic potassium chloride to give a 30 percent suspension of tissue. Half-milliliter portions were placed into 4 flasks standing in a tray of cracked ice. One-tenth milliliter of 3 different concentrations of glucose in isotonic potassium chloride was added to 3 flasks, and 0.1 ml of isotonic potassium chloride was added to the fourth flask serving as an endogenous control. In agreement

with *Racker* and *Krimsky*[8], who also used Swiss albino mice (CFW strain), oxygen uptake occurred in these experiments without cytochrome C

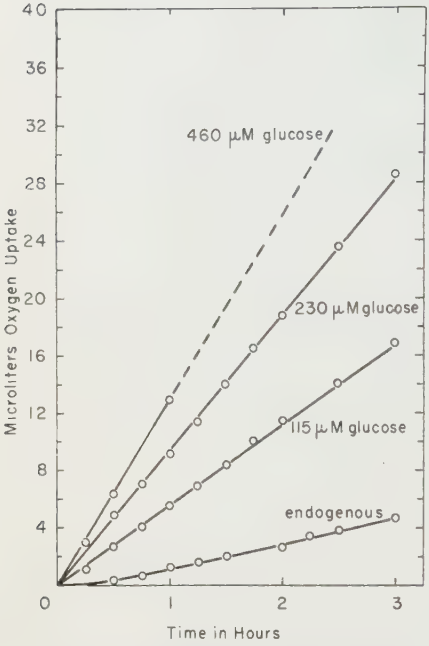


Fig. 4. Oxygen Uptake by E. *Coli* at Different glucose concentrations.

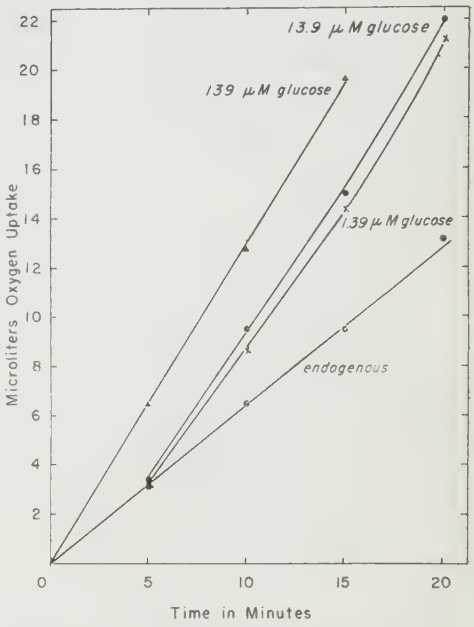


Fig. 5. Oxygen Uptake by Mouse Brain Homogenate at Different Glucose Concentrations.

reinforcement. Oxygen uptake by brain homogenate was fairly rapid with and without added substrate as shown by the curves for endogenuos and substrate respiration.

Summary.

An all-glass differential microrespirometer is described, which is designed to measure the respiration of actively growing cells *in vitro*. The actual growing of the cells was carried out *in situ* in the respirometer to avoid injury by a transfer of the living cells.

The apparatus was also used in measuring the oxygen uptake of bacterial cells and brain homogenate.

Zusammenfassung.

Ein ganz aus Glas hergestelltes Differential-Mikrorespirometer wird beschrieben, das sich zur Messung der Atmung in vitro lebhaft wachsender Zellen eignet. Die Zellen werden im Respirometer in situ gezüchtet, um

eine Verletzung der lebenden Zellen durch Übertragung zu vermeiden. Der Apparat wurde auch zur Messung der Sauerstoffaufnahme von Bakterienzellen und homogenisiertem Gehirnbrei verwendet.

Résumé.

Description d'un microrespiromètre différentiel prévu pour mesurer la respiration de cellules croissant activement in vitro. La croissance réelle des cellules se produit in situ, dans le respiromètre, afin d'éviter toute lésion susceptible d'être provoquée par leur transfert.

L'appareil a été également utilisé pour mesurer les échanges d'oxygène au niveau de cellules bactériennes et d'homogénéisat de cerveau.

References.

[1] *H. Stern* and *P. L. Kirk*, J. Gen. Physiol. **31**, 329 (1948).
[2] *T. Thunberg*, Z. Physiol. **18**, 553 (1904).
[3] *H. Winterstein*, Z. allg. Physiol. **6**, 321 (1907).
[4] *E. M. F. Widmark*, Skand. Arch. Physiol. **24**, 321 (1911).
[5] *W. O. Fenn*, Amer. J. Physiol. **80**, 327 (1927).
[6] *J. H. Hanks* and *R. E. Wallace*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **71**, 196 (1949).
[7] *V. R. Potter* and *C. A. Elvehjem*, J. Biol. Chem. **114**, 495 (1936).
[8] *E. Racker* and *I. Krimsky*, J. Biol. Chem. **161**, 453 (1945).

Aus dem II. Chemischen Universitätslaboratorium in Wien.

Fluorometrische Mikrobestimmung von Gallium mit Solochromfarbstoffen.

Von

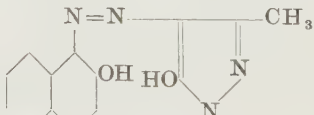
Inge-Maria Ladenbauer, J. Korkisch und **F. Hecht.**

Mit 7 Abbildungen.

(Eingelangt am 20. Oktober 1955.)

Gallium-Mikrobestimmungen nach einer früher ausgearbeiteten Methode, wobei das Gallium bei Gegenwart von Morin und Cupferron mit Chloroform extrahiert und anschließend fluorometrisch bestimmt wurde[1], erwiesen sich bei öfterer Anwendung als nicht befriedigend genau wegen nicht genügend großer Steilheit der Eichkurve. Auch wies das angewandte Extraktionsverfahren leichte Mängel auf, deren Beseitigung sich als notwendig erwies. Wir suchten daher nach anderen Fluoreszenzreaktionen des Galliums und fanden dafür einerseits das 5,7-Dibrom-8-oxychinolin[2], anderseits bestimmte Solochromfarbstoffe geeignet. Das 8-Oxychinolin hatte sich schon früher für eine fluorometrische Methode der Galliumbestimmung brauchbar erwiesen[3].

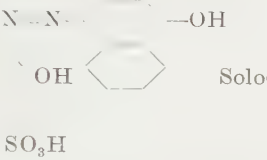
Die vorliegende Arbeit wurde ausgeführt, um aus einer Anzahl von Solochromfarbstoffen diejenigen auszuwählen, die rasche, einfache und genaue Methoden zur Bestimmung von Galliummengen von 0,1 bis 8 μg ermöglichen. Sie sind vor allem für Galliumbestimmungen in Erdölwässern und Mineralen gedacht, deren Galliumgehalt (im Liter bzw. Gramm) in dieser Größenordnung liegt. Von den von uns auf Brauchbarkeit untersuchten Solochromfarbstoffen* erwiesen sich Solochrom-Rot (Solochrome Red E. R. S.)



Solochrome-Red E. R. S.

* Der Fa. Imperial Chemical Industries, Ltd., Hexagon House, Blackley, Manchester, sind wir für die Überlassung einer Reihe von Solochromfarbstoffen zu bestem Dank verpflichtet, ebenso der Fa. Bickford & Co., Wien.

und Solochrom-Schwarz (Solochrome Black W. D. F. A.)



Solochrome-Black W. D. F. A.

am geeignetsten.

Der ebenfalls genau untersuchte Farbstoff Solochrome Black P. V. kann wegen der Flachheit der Extinktions-Konzentrations-Kurve nicht zu einer genauen fluorometrischen Bestimmung des Galliums herangezogen werden. Alle anderen von uns untersuchten Solochromfarbstoffe, die qualitative Fluoreszenzreaktionen mit Gallium geben[4], sind aus demselben Grunde ebenfalls für eine quantitative Bestimmung dieses Elementes ungeeignet.

Die Farbstoffe Solochrom-Rot und Solochrom-Schwarz bilden mit Gallium Komplexe, die bei der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht rot fluoreszieren. Diese Fluoreszenz kann zur quantitativen Bestimmung von Mikrogramm-Mengen Gallium benützt werden.

I. Lösungen und Reagenzien.

Galliumstandardlösungen: 0,0500 g reinstes Gallium wurden in 50 ml 3-n Salzsäure p. a. gelöst und 1 ml davon mit 3-n Salzsäure p. a. auf 100 ml aufgefüllt: 1 ml $\equiv$ 10 μg Gallium. Aus dieser Stammlösung wurden durch Eindampfen entsprechender Volumina und Aufnahme der Rückstände mit 0,1-n Salzsäure p. a. weitere Standardlösungen hergestellt, die 0,1, 1,0 und 2,0 μg/ml enthielten.

Farbstofflösungen: 0,075%ige äthanolische Lösung von Solochrom-Rot E. R. S.: 0,05%ige äthanolische Lösung von Solochrom-Schwarz W. D. F. A. Da die Wirksamkeit der gelösten Farbstoffe mit zunehmendem Alter abnimmt, dürfen nur höchstens einen Monat alte Lösungen verwendet werden.

Amylalkohol: Reiner technischer Amylalkohol wurde zweimal destilliert und die Siedefraktion von 125 bis 141° C für die Versuche verwendet.

Natriumacetatlösung: Durch Auflösen von 1 Mol Natriumacetat p. a. in 1 l Wasser wurde eine 1-m Lösung hergestellt.

0,1-n Salzsäure: Diese wurde aus konz. Salzsäure p. a. bereitet.

II. Apparatur.

Zur Messung der Fluoreszenzintensität wurde das Fluorometer von Kipp en Zonen, Delft, Holland, verwendet[1]. Damit lassen sich Fluoreszenzmessungen von Lösungen in Eprouvetten ausführen. Das Instrument

arbeitet mit Direktanzeige auf einem Spiegelgalvanometer; bei Schaltung auf höchste Empfindlichkeit entsprechen einem Galvanometerausschlag von einem Skalenteil $\sim 3 \cdot 10^{-10}$ A. Alle folgenden Messungen wurden unter Verwendung von Rotfiltern durchgeführt.

III. Solochrom-Rot E. R. S.

Dieser Azofarbstoff sowie sein Galliumkomplex sind in Wasser und wasserähnlichen Lösungsmitteln, wie Methanol, Äthanol, Butanol usw., gut löslich. Der Galliumkomplex besitzt in wäßriger Lösung die optimale Fluoreszenzintensität, so daß alle Fluoreszenzmessungen in diesem Medium durchgeführt wurden. Mit Chloroform ist der Galliumkomplex nicht ausschüttelbar, was diese Bestimmungsmethode des Galliums von anderen älteren Methoden unterscheidet[1,3]. Die Fluoreszenzintensität ist außer von der Art des Lösungsmittels noch von der Galliumkonzentration, der zugesetzten Farbstoffmenge, der Temperatur, der Zeit und dem p_H-Wert der Lösung abhängig.

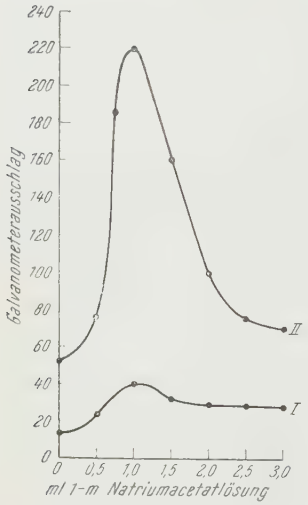


Abb. 1.

Für alle folgenden Messungen wurde eine Galliumstandardlösung verwendet, die 1 μg Gallium/ml in 0,1-n Salzsäure enthielt.

1. Einfluß des p_H-Wertes.

In sieben Reagensflaschen zu je 100 ml, von denen jede 5 ml der Galliumstandardlösung enthielt, wurde durch Zugabe vermehrter Volumina der Natriumacetatlösung unter gleichzeitiger Verminderung des Wasservolumens der p_H-Wert des entstehenden Puffersystems (Natriumacetat-Essigsäure) geändert. Das Endvolumen betrug jeweils 10 ml, in denen sich 5 μg Gallium bei einem bestimmtem p_H-Wert befanden. Nach Zusatz von 0,2 ml der Farbstofflösung wurde 2 Minuten gut durchgeschüttelt und nach 5 Minuten in fluoreszenzfreien Eprouvetten von genau 16 mm Durchmesser die Fluoreszenz bei der Galvanometerempfindlichkeit 4 gemessen. Das Ergebnis dieser Messungen ist in Abb. 1, Kurve *I*, wiedergegeben. Daraus ist zu ersehen, daß der optimale p_H-Wert, der dem Maximum der Kurve entspricht, durch Vereinigung von 5 ml 0,1-n salzsaurer Galliumstandardlösung, 1 ml 1-m Natriumacetatlösung und 4 ml Wasser erreicht wird. Alle weiteren Versuche wurden bei diesem (experimentell gemessenen) p_H-Wert von 4,7 durchgeführt.

2. Einfluß der Farbstoffkonzentration.

In acht Reagensflaschen zu je 100 ml wurde mit 2,5 ml der Galliumstandardlösung, 2,5 ml 0,1-n Salzsäure, 1 ml 1-m Natriumacetatlösung und 4 ml Wasser der optimale p_H-Wert eingestellt. Zu diesen Lösungen wurden verschiedene Volumina der Farbstofflösung zugefügt, gut durchgeschüttelt und nach 5 Minuten bei der (höchsten) Galvanometerempfindlichkeit 5 die Fluoreszenz der Lösungen gemessen. Aus der Abb. 2, Kurve *I*, geht hervor, daß die optimale Farbstoffkonzentration, die dem Maximum der Kurve entspricht, durch 0,075 ml der Farbstofflösung gegeben ist. Durch analoge Messungen wurde festgestellt, daß diese optimale Farbstoffkonzentration eine Funktion der Galliumkonzentration ist. Demzufolge reicht die Farbstoffkonzentration zur Komplexbildung nur bis zu einer bestimmten Galliumkonzentration aus, die durch die obersten Meßwerte der Eichkurven in Abb. 5, 6 und 7 gegeben ist.

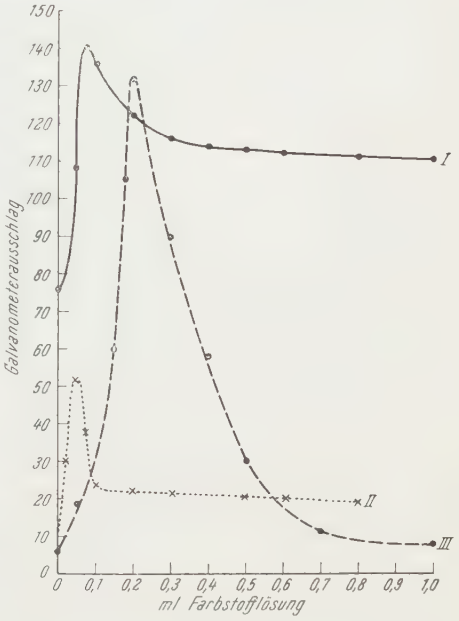


Abb. 2.

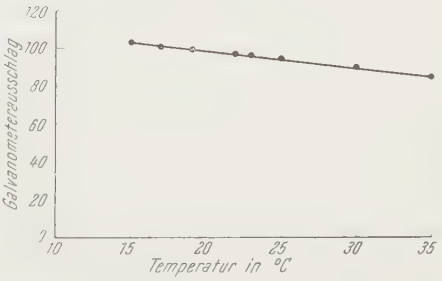


Abb. 3.

3. Einfluß der Temperatur.

1 ml der Galliumstandardlösung wurde mit 4 ml 0,1-n Salzsäure, 1 ml 1-m Natriumacetatlösung und 4 ml Wasser auf den optimalen p_H-Wert gebracht, mit 0,075 ml der Farbstofflösung versetzt, 2 Minuten geschüttelt und 5 Minuten stehengelassen. Danach wurde die Lösung auf 35° C erwärmt und die Fluoreszenzintensität bei der Empfindlichkeit 5 laufend bis zur Abkühlung auf 15° C gemessen. Aus Abb. 3 ist zu ersehen, daß die Emissionsintensität der Temperatur umgekehrt proportional ist.

4. Einfluß der Zeit.

1 ml Galliumstandardlösung wurde wie oben auf den optimalen p_H-Wert gebracht, mit 0,075 ml Farbstofflösung versetzt und 2 Minuten gut durchgeschüttelt; sofort danach wurde die Fluoreszenz bei der Galvanometerempfindlichkeit 5 gemessen. Hierauf wurden die Fluoreszenzmessungen so lange fortgesetzt, bis die Galvanometerausschläge einen konstanten Wert annahmen. Aus der Abb. 4 ersieht man, daß die Fluoreszenzintensität der Probe schon nach 3 Minuten ihren Maximalwert erreicht. Dieser Wert bleibt einige Stunden beständig, um dann wieder abzunehmen.

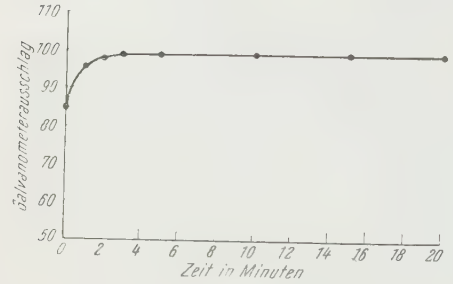


Abb. 4.

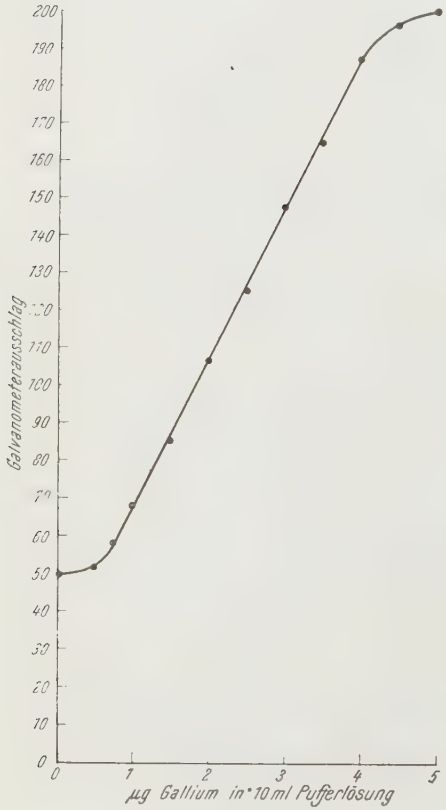


Abb. 5.

5. Aufnahme einer Eichkurve.

In acht Reagensflaschen zu je 100 ml wurden der Reihe nach Galliumkonzentrationen von 0 bis 5 µg Gallium pro 10 ml Meßvolumen hergestellt, indem der Galliumstandardlösung entsprechende Volumina entnommen und mit 0,1-n Salzsäure auf 5 ml aufgefüllt wurden. Darauf wurden zu jeder dieser Lösungen 1 ml 1-m Natriumacetatlösung, 4 ml Wasser und 0,075 ml der Farbstofflösung hinzugefügt, 2 Minuten gut durchgeschüttelt und nach 5 Minuten in fluoreszenzfreien Eprouvetten bei konstanter Temperatur die Fluoreszenz der Lösungen bei der Galvanometerempfindlichkeit 5 so gemessen, daß mit der 5 µg Gallium enthaltenden Lösung auf Skalenteil 200 eingestellt und alle anderen Werte relativ dazu be-

stimmt wurden. Die Aufnahme der Eichkurve erfolgte mittels dreier Meßreihen, deren Mittelwerte die in Abb. 5 wiedergegebene Kurve lieferten. Danach verläuft die Eichkurve im Bereich von 1 bis 4 μg Gallium linear. In diesem Konzentrationsbereich beträgt die Streuung zwischen den einzelnen Messungen von Lösungen mit gleicher Galliumkonzentration $\pm$ 0.07 μg Ga, 10 ml. Bei weniger als 1 μg und mehr als 4 μg Gallium ist die Genauigkeit geringer.

6. Einfluß von Fremdionen.

Bei der Aufarbeitung der Proben muß das Gallium, damit es nach dieser Methode bestimmt werden kann, zuerst mittels mit 6-n Salzsäure gesättigten Äthers unter Zusatz von Titan(III)-chloridlösung extrahiert werden[1].

Da danach aber noch immer Spuren Eisen zugegen sind, müssen diese auf papierchromatographischem Wege oder mittels eines Ionenaustauschers abgetrennt werden*. Diese Extraktions- und Trennungsverfahren sind deshalb unbedingt notwendig, weil der Farbstoff mit einer Reihe von Kationen, z. B. Aluminium und Indium, fluoreszierende Komplexe liefert.

Auch gegen Oxydations- und Reduktionsmittel wie z. B. Eisen(III)-salze, Chromate, Titan(III)-salze usw. ist der Farbstoff nicht stabil. Gefärbte Kationen wie Cu, Co, Ni usw. stören durch ihre Eigenfärbung ebenfalls die fluorometrische Bestimmung des Galliums. Da die Stabilität des Galliumfarbstoffkomplexes relativ gering ist, können solche Verbindungen und Ionen, die mit Gallium Komplexe bilden, wie z. B. Oxysäuren, Dicarbonsäuren, mehrwertige Alkohole, Zucker, Phosphate, Fluoride usw., die Messungen stören bzw. unmöglich machen. Dasselbe gilt auch für die folgende Methode unter Verwendung von Solochrom-Schwarz W. D. F. A., doch wirken sich dort Eisen(III)-Konzentrationen bis zu 10 μg Eisen(III)/10 ml nicht mehr störend aus.

IV. Solochrom-Schwarz W. D. F. A.

Zum Unterschied von Solochrom-Rot gibt der Galliumkomplex dieses Azofarbstoffes in wäßriger Lösung praktisch keine Fluoreszenz. In den schwer wasserlöslichen Alkoholen wie Butanol, Amyl- und Hexylalkohol dagegen zeigt der Komplex schon bei Tageslicht eine intensiv blutrote Fluoreszenz, die in amylalkoholischer Lösung ihr Maximum erreicht. Es wurden daher alle Fluoreszenzmessungen in amylalkoholischem Medium ausgeführt. Die Fluoreszenzintensität wird außer von den beim Solochrom-Rot angeführten Variablen noch vom Wassergehalt der Amylalkohol-

* Diese Untersuchungen werden an anderer Stelle veröffentlicht werden.

schichte beeinflußt. Da deren Wassergehalt sehr von der Temperatur abhängig ist, muß bei allen Versuchen auf eine strenge Temperaturkonstanz geachtet werden. Eine Trocknung des Amylalkoholextraktes erübrigt sich aber, wenn man ihn mit reinem, trockenem Amylalkohol verdünnt.

1. Einfluß des p_H-Wertes.

Die Versuche zur Ermittlung des optimalen p_H-Wertes wurden analog wie beim Solochrom-Rot durchgeführt, mit Ausnahme dessen, daß hier jede Versuchslösung 1 μg Gallium/10 ml enthielt und nach Zusatz von 0,05 ml der Farbstofflösung der Farbstoff und sein Galliumkomplex mit 6 ml Amylalkohol ausgeschüttelt wurden. Der Amylalkoholschichte wurden nach Ablauf einer Stunde 3 ml entnommen, in der Meßeprouvette mit 3 ml reinem Amylalkohol verdünnt und die Fluoreszenz bei Galvanometerempfindlichkeit 5 gemessen. Wie Abb. 1, Kurve *II*, zeigt, ist der optimale p_H-Wert mit dem bei Solochrom-Rot ermittelten identisch.

2. Einfluß der Farbstoffkonzentration.

Die diesbezüglichen Versuche wurden wie bei Solochrom-Rot angestellt, doch wurden hier zwei Meßreihen ausgeführt, deren Galliumkonzentrationen pro 10 ml Pufferlösung in einem Fall 1 μg/10 ml, im anderen 10 μg/10 ml betrugen. Auch hier wurde jede Lösung mit 6 ml Amylalkohol ausgeschüttelt, daraus 3 ml entnommen, mit 3 ml reinem Amylalkohol verdünnt und die Fluoreszenz der 1-μg-Werte bei der Galvanometerempfindlichkeit 4 und der 10-μg-Werte bei der geringeren Empfindlichkeit 3 gemessen. Bei diesem Farbstoff hängt die optimale Farbstoffkonzentration noch stärker mit der Galliumkonzentration zusammen als bei Solochrom-Rot. Für die Konzentrationen von 1 μg Gallium/10 ml wurden 0,05 ml und für 10 μg/10 ml 0,2 ml der Farbstofflösung als optimale Farbstoffkonzentrationen ermittelt. Das Ergebnis dieser Messungen ist aus den Kurven *II* und *III* der Abb. 2 zu ersehen.

3. Einfluß der Temperatur und der Zeit.

Hier wurde ebenfalls wie bei den Versuchen mit Solochrom-Rot eine Abkühlungskurve von 35 bis 15° C aufgenommen; hingegen erfolgten die Messungen nicht wie dort in wäßriger, sondern in amylalkoholischer Lösung, die durch Verdünnen von 3 ml Extrakt mit 3 ml reinem Amylalkohol hergestellt wurde. In diesem Medium ist die Fluoreszenzintensität eine noch ausgeprägtere Funktion der Temperatur als in wäßriger Lösung, das heißt, mit fallender Temperatur nahm die Emissionsintensität stark zu. Hier betrug die Differenz der Galvanometerausschläge bei einer

Temperaturänderung um 10° C 10 Skalenteile. Bezüglich des Zeiteinflusses konnte festgestellt werden, daß sofort nach dem Verdünnen des Extraktes mit Amylalkohol die volle Fluoreszenzintensität erreicht wurde.

4. Aufnahme von Eichkurven.

a) Eichkurve von 0 bis 10 μg Gallium.

In 10 Eprouvetten wurden Galliumkonzentrationen von 0 bis 10 μg pro 10 ml Pufferlösung hergestellt, indem der Galliumstandardlösung, die 2 μg/ml enthielt, entsprechende Volumina entnommen und mit 0,1-n Salzsäure auf 5 ml aufgefüllt wurden. Hierauf wurde in jeder dieser Lösungen mit 1 ml der 1-m Natriumacetatlösung und 4 ml Wasser der optimale p_H-Wert eingestellt. Diesen Lösungen wurden dann je 0,2 ml der Farbstofflösung zugesetzt. Nach gutem Durchschütteln und Zugabe von je 6 ml Amylalkohol wurden der Farbstoff und sein Galliumkomplex ausgeschüttelt. Eine Stunde später wurden jeder Amylalkoholschichte 3 ml entnommen, in eine fluoreszenzfreie Eprouvette gebracht und mit 3 ml reinem Amylalkohol verdünnt. Nach gründlichem Durchmischen wurde dann die Fluoreszenzintensität der einzelnen amylalkoholischen Lösungen so bestimmt, daß bei Galvanometerempfindlichkeit 5 mit der ursprünglich 10 μg Gallium pro 10 ml Pufferlösung enthaltenden amylalkoholischen Lösung, die jetzt nur mehr 5 μg Gallium in 6 ml Meßvolumen enthielt, auf Skalenteil 200 eingestellt und alle anderen Werte relativ dazu bestimmt wurden. Wie Abb. 6 zeigt, verläuft die Eichkurve, die das Resultat dreier Meßreihen darstellt, im Bereich von 3 bis 8 μg Gallium pro 10 ml Pufferlösung linear. Die Streuung zwischen Messungen

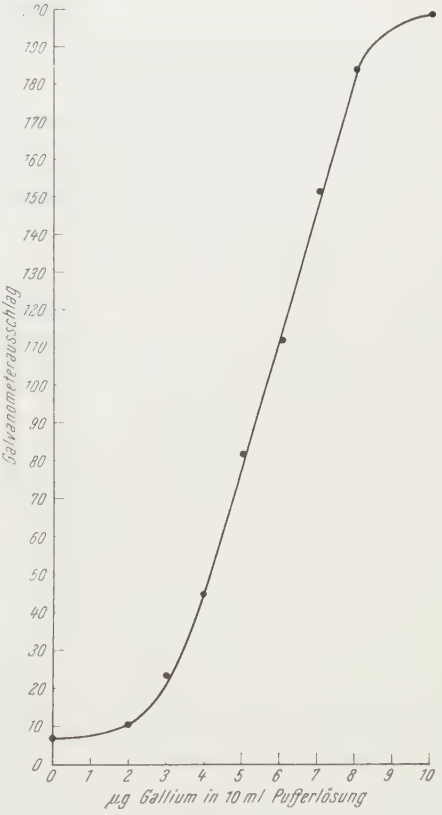


Abb. 6.

von Lösungen mit gleichen Galliumkonzentrationen beträgt hier $\pm$ 0,2 μg Gallium/10 ml, so daß das Gallium in diesem Konzentrationsbereich mit $\pm$ 2,5 bis 6,6% Genauigkeit bestimmbar ist. Unterhalb 3 μg und oberhalb 8 μg Gallium waren die Abweichungen von der Kurve schon merklich größer.

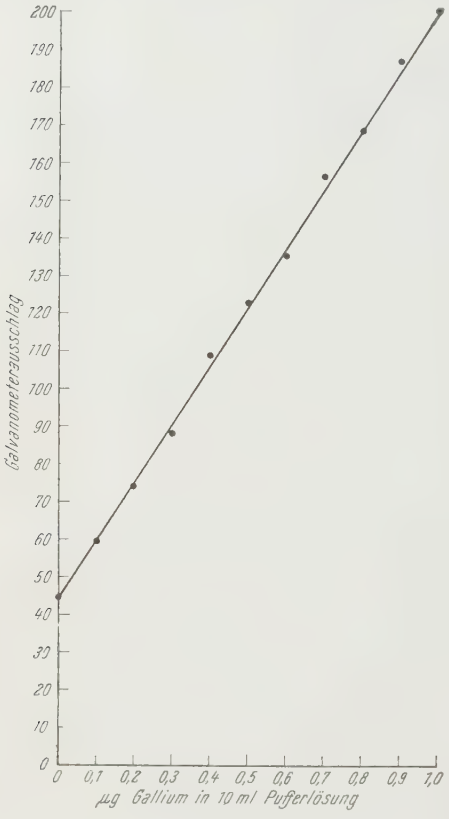


Abb. 7.

b) Eichkurve von 0 bis 1 μg Gallium.

Die Aufnahme dieser Eichkurve erfolgte analog zu a), mit Ausnahme dessen, daß hier Galliumkonzentrationen gemessen wurden, die im Bereich von 0 bis 1 μg Gallium pro 10 ml Pufferlösung lagen, und daß an Stelle von 0,2 ml der Farbstofflösung nur 0,05 ml zugesetzt wurden. Die Eichkurve in Abb. 7 zeigt im gesamten Konzentrationsbereich linearen Verlauf. Die Streuung ist bedeutend größer als bei den Messungen, die zu der Eichkurve in Abb. 6 führten. Sie beträgt im Durchschnitt 0,05 μg Gallium pro 10 ml Pufferlösung.

Mit den beiden Eichkurven der Abb. 6 und 7 lassen sich in den Konzentrationsbereichen, in denen sie linear verlaufen, Galliumbestimmungen zwischen 3 und 8 μg sowie zwischen 0,1 und 1 μg gut durchführen. Im Konzentrationsbereich zwischen 1 und 4 μg/10 ml kann man mittels der Eichkurve in Abb. 5 ebenfalls genaue Galliumbestimmungen vornehmen, so daß durch Kombination dieser drei Eichkurven Gallium im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 8 μg/10 ml bis auf $\pm$ 0,1 μg 10 ml (bzw. $\pm$ 0,2 μg/10 ml) genau ermittelt werden kann.

Zusammenfassung.

Es wurden zwei rasch ausführbare und genaue mikroanalytische Bestimmungsmethoden des Galliumions mit den Azofarbstoffen Solochrom-Rot E. R. S. und Solochrom-Schwarz W. D. F. A. ausgearbeitet. Diese

Methoden beruhen auf einer der Galliumkonzentration proportionalen Zunahme der Fluoreszenz nach Zugabe entsprechender Mengen der Farbstoffe in wäßriger bzw. amylalkoholischer Lösung. Es sind 0,1 bis 8 μg Ga in 10 ml Lösung mit einer durchschnittlichen Genauigkeit von etwa $\pm 5\%$ bestimmbar. Das Galliumion muß vorher durch Ätherextraktion angereichert werden. Zur Entfernung verbliebener Spuren störender Fremdionen ist eine Trennung auf papierchromatographischem Wege oder mittels eines Ionenaustauschers erforderlich, worüber an anderer Stelle berichtet werden wird.

Summary.

Two rapid and accurate methods of determining gallium with the azo dyes Solochrome red E. R. S. and Solochrome black W. E. F. A. were worked out. These methods are based on an increase in the fluorescence, proportional to the gallium concentration, after the addition of suitable amounts of the dyes in aqueous or amylalcohol solution. It is possible to determine 0.1 to 8 μg gallium in 10 ml solution with an average accuracy of approximately $\pm$ 5%. The gallium ion must be concentrated beforehand by extraction with ether. To remove residual foreign ions it is necessary to make a paper chromatographic separation or to use an ion exchanger. These latter points will be reported elsewhere.

Résumé.

On a mis au point deux méthodes microanalytiques rapides et précises pour le dosage de l'ion gallium avec les colorants azoïques Rouge Solochrome E. R. S. et Noir Solochrome W. D. F. A. Ces méthodes sont basées sur une croissance de la fluorescence proportionnelle à la concentration du gallium, après addition de quantités correspondantes des colorants en solution aqueuse ou dans l'alcool amylique. On peut ainsi doser 0,1 à 8 μg de gallium en 10 ml de solution avec une précision moyenne d'environ $\pm$ 5%. Les ions gallium doivent subir une concentration préalable à l'aide d'une extraction à l'éther. Il est nécessaire d'éliminer les ions étrangers restants qui perturberaient le dosage soit par séparation chromatographique sur papier, soit par emploi d'un échangeur d'ions; ces traitements feront l'objet d'une autre publication.

Literatur.

[1] *L. K. Bradacs, F. Feigl* und *F. Hecht,* Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 269.
[2] *Inge-Maria Ladenbauer,* Mikrochim. Acta [Wien] **1956** (im Druck).
[3] *E. B. Sandell,* Analyt. Chemistry **19**, 63 (1947).
[4] *J. A. Radley,* Analyst **68**, 369 (1943).

Institute of Medical Chemistry, University of Uppsala, Sweden.

Ultramicrocolorimetric Argentimetry.

(Preliminary Report.)

By

Wolfgang J. Kirsten.

With 1 Figure.

(Received June 3, 1955.)

Chloride, bromide, iodide and sulphide in a phosphoric acid-ethyl acetate-chloroform solution react with the silver of the diphenylthiocarbazone-silver complex. The corresponding silver complexes are formed. Diphenylthiocarbazone is liberated and can be measured at 598 mμ. The reaction is extremely sensitive.

Reagents.

Ethyl acetate: 2 ml of 85% phosphoric acid were dissolved in 150 ml ethyl acetate.

Dithizonate: 10 mg of the yellow silver-diphenylthiocarbazone complex were dissolved in 100 ml chloroform. The solution was shaken several times with 0.1 N acetic acid.

Sodium chloride: 0.005 N solution in water.

Potassium bromide: 0.006 N solution in water.

Potassium iodide: 0.007 N solution in water.

Sodium sulphide: approximately 0.008 N solution in water. A crystal of sodium sulphide was dried with filter paper, weighed, dissolved in boiled-out water and diluted to volume.

Method.

Into 10-ml measuring flasks were pipetted 0.5, 10, 20 μl of the test solutions. 5 ml of ethyl acetate reagent were added followed by 2 ml dithizonate. After thorough shaking the volume was made up to the mark with ethyl acetate, and the colours were read at 598 mμ in a Beckman

model B spectrophotometer using 1-cm cuvettes and water as blank solution. The results are given in Fig. 1. The experiment with sulphide has to be considered as a qualitative test rather than a real deter-

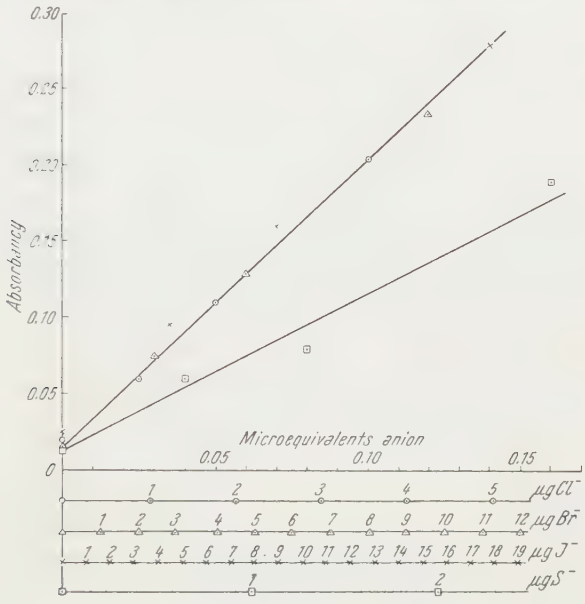


Fig. 1. Standard curves obtained with test solutions.

mination. The small blank is probably caused by impurities in the reagents. The silver dithizone complex has no absorption in this range. A more detailed paper will be published after a further investigation of the method.

Aus dem Institut für analytische Chemie der Technischen Hochschule für Chemie, Pardubice, ČSR.

Mikro-Nachweis des Kohlenstoffes in organischen und anorganischen Verbindungen mittels Magnesiumaufschlusses.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

M. Jurečeк.

(Eingelangt am 18. Oktober 1955.)

Der Nachweis des Kohlenstoffes in kleinen Substanzmengen ist weder einfach noch verläßlich. Bei organischen Verbindungen genügt meistens zum Nachweis des organischen Charakters einer Substanz die Glühprobe auf dem Platinblech. In zweifelhaften Fällen wird die klassische Oxydationsprobe mit Kupferoxyd durchgeführt; das gebildete Kohlendioxyd wird durch Barytlauge nachgewiesen. Im Mikromaßstab ist jedoch diese Probe umständlich und unsicher, nachdem sie besondere Maßnahmen in Hinsicht auf die Anwesenheit des Kohlendioxyds in der Laboratoriumsluft verlangt. Dieselbe Schwierigkeit betrifft den Kohlenstoffnachweis in kleinen Mengen Carbonat, gleichgültig, ob man die Zersetzung durch Hitze oder Säuren vornimmt.

Beim Glühen organischer Verbindungen mit metallischem Magnesium wird das Substanzmolekül bis zum Kohlenstoff abgebaut[1]; der Wasserstoff wird elementar frei, andere Elemente (N, Halogene, S, P, As)[2,3] werden an das Magnesium gebunden. In der Glühhitze verbindet sich der Kohlenstoff zum Teil mit Magnesium unter Bildung von Carbid. Dieses liefert nach Zugabe von Wasser Allylen.

Wie bekannt, geben sämtliche Acetylenderivate, die mindestens ein Wasserstoffatom an dreifach gebundenem Kohlenstoff enthalten, eine empfindliche Farbreaktion mit Kupfer(I)salzlösungen (Reagens von *Ilosvay*), in denen sie rötliche bzw. gelbe Niederschläge hervorrufen.

Die Carbonate werden gleichfalls durch Glühen mit Magnesiummetall zu Carbiden reduziert, die mit Wasser leicht nachweisbare Acetylenkohlenwasserstoffe liefern.

Auf dieser Grundlage wurde ein einfacher und spezifischer Nachweis des Kohlenstoffes in kleinen Substanzmengen organischer und anorganischer Verbindungen entwickelt. Die Probe (1–2 mg) wird mit Magnesiumpulver im zugeschmolzenen Röhrchen aufgeschlossen, das Reaktionsprodukt mit verdünnter Salzsäure im inerten Gasstrom zerlegt und der gebildete Acetylenkohlenwasserstoff durch ein mit *Ilosvay*schem Reagens befeuchtetes Filtrierpapier nachgewiesen.

Die Reaktionsgase enthalten flüchtige Siliciumverbindungen, die aus dem durch Reduktion der Kieselsäure entstandenen Magnesiumsilicid stammen und die Farbreaktion des Allylens beeinträchtigen. Aus schwefel-, phosphor- oder arsenhaltigen Substanzen entstehen Schwefel-, Phosphor- bzw. Arsenwasserstoff, die den Kohlenstoffnachweis unmöglich machen würden. Alle diese störenden Gase können in einem Absorptionsröhrchen an mit Quecksilberchloridlösung getränktem Bimsstein restlos zurückgehalten werden.

Literatur.

[1] Vgl. auch *G. Kainz* und *A. Resch*, Mikrochem. **39**, 75 (1952).
[2] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 74; **1955**, 44.
[3] *M. Jureček* und *J. Jeník*, Coll. trav. chim. Tchécoslovaquie **20**, 550 (1955).

In memoriam
Franz Xaver Mayer.

Am 26. September 1955 starb in Wien Universitätsprofessor Dr. techn. Dipl.-Ing. *Franz Xaver Mayer*. Er war Gründer und erster Vorsitzender der Arbeitsgruppe für Spektroskopie und Kolorimetrie im Verein Österreichischer Chemiker, Vizepräsident der Österreichischen biochemischen Gesellschaft, Mitglied der Österreichischen Gesellschaft für Mikrochemie und mehrerer anderer wissenschaftlicher Gesellschaften des In- und Auslandes und Ehrenmitglied des Groupement pour l'avancement des méthodes d'analyse spectrographique des produits métallurgiques (GAMS). Schon allein hierin zeigt sich die Vielfalt der wissenschaftlichen Interessen des Verstorbenen, denen aber auch ein außerordentlich vielseitiges Können entsprach. Besonders für die spektroskopische Arbeitsrichtung in Österreich bedeutet sein Tod einen schweren Verlust, der um so härter trifft, als vor knapp 2 Jahren erst *Mayers* Freund und Fachkollege *Alfred Luszczak* begraben wurde.

F. X. Mayer wurde am 20. April 1904 in Wien als Sohn des Schuldirektors *Franz Mayer* geboren, absolvierte seine Studien an der Technischen Hochschule in Wien, erhielt 1929 das Ingenieurdiplom und wurde auf Grund seiner Dissertation über „Die quantitative Bestimmung von Benzol in Blut und Organen auf spektralanalytischem Wege" im Jahre 1938 zum Doktor der technischen Wissenschaften promoviert. Mit dieser Dissertationsarbeit hatte sich *Mayer* der damals noch relativ neuen Analysenmethodik endgültig verschrieben. Durch seine Tätigkeit als Assistent am hygienischen Institut der Universität wurde er mit den Problemen der Gewerbehygiene vertraut und von dem damaligen Vorstand des Institutes, *R. Graßberger*, auf den Einsatz optischer Meßmethoden hingewiesen. Es zeigt von der Gründlichkeit *Mayers*, daß er sich entschloß, seine Kenntnisse bei *Gerlach*, einem Meister dieser Verfahren, zu festigen und zu vertiefen. Mit Hilfe dieser Methoden konnte er sich der Bearbeitung von Problemen der Grenzgebiete zwischen Chemie, Medizin und Kriminalistik zuwenden, denen sein brennendes Interesse galt. Am 1. September 1937 von Prof. *F. Reuter* mit der Leitung des chemischen

Laboratoriums am gerichtlich-medizinischen Institut der Universität Wien betraut, fand *Mayer* schließlich ein Betätigungsfeld, das in seiner Vielfältigkeit seinen analytischen Fähigkeiten entsprach. Seine erfolgreiche Arbeit auf diesem schwierigen Gebiet der analytischen und präparativen Chemie fand nicht nur seinen Niederschlag in rund 50 wissenschaftlichen Veröffentlichungen, sondern führte auch zu seiner Bestellung als ständig beeideter Sachverständiger für das Fach allgemeine Chemie beim Landesgericht für Strafsachen in Wien. *Mayers* ausgeprägtes Einfühlungsvermögen in die besonderen Fragenkomplexe der Kriminalistik und des Rechtswesens und die von ihm abgegebenen, präzisen und klaren Gutachten boten den Gerichten eine verläßliche Grundlage für die zu treffenden Entscheidungen und Urteile.

Auf Grund seiner Habilitationsschrift „Die Bestimmung von Benzolkohlenwasserstoffen in Lacklösungsmitteln" erwarb *Mayer* im Jahre 1941 die Venia legendi. Er war ein hervorragender und begeisterter Lehrer. Wer seinen oft mit launigen Bemerkungen gewürzten Vorträgen und Vorlesungen beiwohnte, wußte, daß hier ein Fachmann erfolgreich bemüht war, gründliches Wissen und reiche Erfahrung aus lebendiger Praxis zu vermitteln. Seinen Hörern wußte sich *Mayer* über das übliche Maß hinaus persönlich verpflichtet. Mancher seiner Dissertanten verdankt ihm seine Lebensstellung. Die Verleihung des Titels eines a. o. Universitätsprofessors im Jahre 1952 war ein äußeres Zeichen der Anerkennung für seine Lehrtätigkeit.

Sein Interesse für die Spektralanalytik führte zur Gründung der Arbeitsgruppe für Spektroskopie und Kolorimetrie im Verein Österreichischer Chemiker. Als ältester und ständiger Mitarbeiter *Mayers* in dieser Arbeitsgruppe darf hier der Verfasser auf das erstaunliche Organisationstalent des Verewigten hinweisen, das seiner großen Bescheidenheit wegen meist unbekannt blieb. Wie überall, wo er seine Mitarbeit zusagte, warf er seine ganze Person und Arbeitskraft für das Gedeihen dieser Arbeitsgruppe in die Waagschale. Sein vornehmstes Ziel war es, den Kontakt der österreichischen Spektroskopiker mit ihren ausländischen Fachkollegen nach dem Kriege zu fördern. Die von ihm geführte Arbeitsgruppe trat aber auch vielfach mit Institutskolloquien und Vorträgen im Rahmen des Vereines Österreichischer Chemiker hervor und verschaffte sich unter seiner Führung auch bald internationale Geltung. Dies zeigte sich schon beim IV. Internationalen Kolloquium für Spektroskopie 1953 in Münster, wo Österreich erstmals mit einer größeren Zahl von Teilnehmern und wissenschaftlichen Vorträgen vertreten war und wo die österreichische Gruppe mit der Organisation des nächsten Kolloquiums betraut wurde. Der Erfolg des V. Kolloquiums, das 1954 in Gmunden stattfand, war außerordentlich: die Teilnahme von rund 550 Fachkollegen aus 24 Ländern mit 55 Vorträgen zeigt die Bedeutung und allgemeine

Anerkennung der von *Mayer* geschaffenen und ausgestalteten Arbeitsgruppe. Er selbst berichtete dann in einem dieser Veranstaltung gewidmeten, umfangreichen Heft dieser Zeitschrift über den Verlauf des Kolloquiums. Das Zustandekommen dieses alle Vorträge und Diskussionen umfassenden Berichtes ist seiner Initiative zu verdanken. Im Rahmen dieser von so viel Erfolg begleiteten internationalen Veranstaltung wurde auch der Quantometrie erstmalig ein eigenes Symposium eingeräumt.

Wie in Österreich schon seit langem die fruchtbaren Beziehungen zwischen Spektroskopie und Mikrochemie erkannt wurden, hat auch die Arbeitsgruppe diese Zusammenarbeit, die zu den förderlichsten Kombinationen analytischer Arbeitsmethoden zählt, durch die Organisation eines Symposiums im Rahmen der Mikrochemie-Tagung Wien 1955 gefördert. In- und ausländische Fachkollegen folgten gerne der Einladung *Mayers* zur Tagung und berichteten über mikrochemisch-spektralanalytische Themen verschiedenster Richtung. Niemand ahnte damals, daß diese festliche Zusammenkunft zugleich auch ein Abschied war.

Die Veröffentlichungen und Vorträge *Mayers* zeigen ebenso wie seine Tätigkeit als Gutachter seine Verbundenheit mit der Mikrochemie als angewandter Wissenschaft z. B. bei der großangelegten Untersuchung der Mineralwässer in Bad Tatzmannsdorf, die sich über einen Zeitraum von 9 Jahren erstreckten (gemeinsam mit *H. Jansch*). Im Laboratorium bewies *Mayer* hervorragendes apparatives Geschick. Davon zeugen z. B. sein Spezialvorstoß zur Abscheidung kleiner Lösungsmittelmengen oder ein origineller Apparat zur Bestimmung des Flammpunktes im Mikromaßstab.

Mayer starb an einem schweren Nierenleiden. Diese Krankheit trug er jahrelang mit allen damit verbundenen Entsagungen in wahrem Heroismus, der bei seinen Kollegen und Mitarbeitern höchste Bewunderung und Achtung erregte. Seinem Leiden stellte er bis in die allerletzte Zeit bewundernswerten Arbeitswillen entgegen.

Seiner 80jährigen Mutter und seiner Gefährtin in 20 Jahren einer glücklichen Ehe gilt die Teilnahme seiner Mitarbeiter, Schüler und Freunde. Ihnen allen bedeutet sein Leben Vorbild und Verpflichtung.

Requiescat in pace! *H. Svejda*

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften.

Colloquium Spectroscopicum Internationale VI Amsterdam 1956.

Unter der Patronanz der Koninklijke Nederlandse Chemische Vereeniging und der Nederlandse Natuurkundige Vereeniging wird das VI. internationale spektroskopische Kolloquium vom 14. bis 19. Mai 1956 in Amsterdam abgehalten.

Als Hauptthemen des Kolloquiums werden vorgeschlagen:

Für die Emissionsspektroskopie „Der Einfluß der Art der Lichtquelle auf die Emission (Flamme, Gleichstrombogen, Funke)",

für die Molekularspektroskopie aus dem Bereich der Absorptionsspektroskopie „Die Behandlung von Fehlerquellen bei der Extinktionsmessung";

Instrumentation und Quantometrie werden entsprechend berücksichtigt werden.

Für die Diskussion werden als Themen vorgeschlagen: Nomenklatur, Normierung, Dokumentation, Gebrauch von Lochkarten.

Während des Kolloquiums wird eine Ausstellung spektroskopischer Geräte und Literatur gezeigt werden.

Teilnehmer, die beabsichtigen, während des Kolloquiums einen Vortrag zu halten, werden gebeten, dies freibleibend so bald als möglich unter Angabe des in Aussicht genommenen Titels dem Büro bekanntzugeben. Anfragen über weitere Informationen sind zu richten an:

Colloquium Spectroscopicum Internationale VI,

Laboratorium voor Analytische Chemie, Amsterdam, Nieuwe Achtergracht 125.

Für die Durchführung der Veranstaltung zeichnen Prof. Dr. *W. van Tongeren*, Vorsitzender, und *F. Freese*, Sekretär.

Analytical Section International Union of Pure and Applied Chemistry. News Release.

Analytical Section IUPAC Elect Officers.

The Analytical Section of the International Union of Pure and Applied Chemistry elected four new members to its Section Committee. These are

Mr. *Samuel E. Q. Ashley* of General Electric Company (Louisville, Kentucky, U. S. A.), Dr. *Roland Belcher* of the University of Birmingham (England), Prof. *Gerold Schwarzenbach* of the University of Zurich (Switzerland), and Dr. *Fredrick D. Tuemmler* of the Shell Development Company (Emeryville, California, U. S. A.); these memberships are for a term of four years except that of Mr. *Ashley* which is a two-year term.

The election results were declared after examination of a letter ballot of the Section members at the meeting of the Section Committee at Zurich on July 21 and 27, during the XVIIIth Conference of the IUPAC held at the Swiss Federal Institute of Technology. During the same meeting, Dr. *Tuemmler* was elected Secretary of the Section by the Section Committee, a post to be held until 1959. He succeeded Mr. *Ashley* who held the office since 1949. In its meeting on July 21, the Section Committee expressed by rising vote of thanks, its great indebtedness to Mr. *Ashley* for all the work which he has done on behalf of the Section.

The President of the Section, Prof. *I. M. Kolthoff* of the University of Minnesota (Minneapolis, U. S. A.), the Vice President, Mr. *R. Clark Chirnside* of the General Electric Company (Wembley, England), and the Secretary form the Executive Committee of the Section. The remaining four members of the Analytical Section Committee are: Prof. *G. Duyckaerts* of the University of Liège; Prof. *C. J. van Nieuwenburg* of the Technische Hoogeschool (Delft, The Netherlands), Prof. *Lars Gunnar Sillen* of the Royal Institute of Technology (Stockholm, Sweden) and Prof. Dr. *Michael K. Zacherl* of the Tierärztliche Hochschule (Vienna, Austria). The terms for these six members expire in 1957.

The members whose term expired this year are Prof. *Fritz Feigl* of Rio de Janeiro (Brazil), Dr. *J. I. Hoffman* of the U. S. National Bureau of Standards (Washington, D. C.) and Prof. Dr. *P. E. Wenger* of L'Ecole de Chimie de l'Université (Geneva, Switzerland). Prof. *Wenger* served as Vice President of the Union from 1951 to 1955 and was one of the leaders in the reorganization of the Analytical Section in the period since 1948.

More on Lisbon Congress.

In connection with the 1956 International Analytical Congress at Lisbon being held under the patronage of the Analytical Section of the Union, it was decided that all papers submitted essentially should be new or novel contributions; review papers would be discouraged. In the interest of securing papers at as high a level of scientific interest as possible, the national adhering bodies of the Union have been requested to screen the papers submitted from their respective countries.

The Lisbon Analytical Congress, the XVth Congress of the IUPAC is being arranged by an Organizing Committee of Chemists in Portugal, of which Prof. Dr. *Pierre A. Laurent*, of the Instituto Superior Técnico, Avenida Rovisco Pais, is Secretary-General. The Congress will be divided into the following Sections: (1) Microchemical Methods, (2) Biological Methods, (3) Electrical Methods, (4) Optical Methods, (5) Radiochemical Methods, (6) Organic Complexes, (9) General, and (10) Standardization of Methods and Miscellaneous Applications. Persons interested in having further information regarding the Congress should write to Prof. *Laurent* at the above address.

Activities of Commissions of Analytical Section.

All of the Commissions of the Analytical Section have been very active during the past year, two of them reporting to the Union on pending publications. The Commission on Analytical Reactions, headed by Prof. *Jan Gillis* (Ruksuniversiteit Gent, Belgium) reported that the monograph on colorimetry of inorganic compounds prepared by Prof. *Clément Duval* (National Center of Scientific Research, Paris, France) has just been published under the patronage of the Analytical Section.

The Commission on Equilibrium Data, headed by Prof. *L. G. Sillén* (Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden) has collected a great number of published equilibrium data. To date, Prof. *J. Bjerrum* (University of Copenhagen, Denmark) has prepared a complete set of tables of stability constants of inorganic complexes and chelate compounds (of the order of a few thousand), covering literature up to 1953. After some further editing and making the data complete to the end of 1955 by Profs. *Schwarzenbach* and *Sillén*, these very valuable tables will be published in 1956, by the Chemical Society of London under sponsorship of the IUPAC. This Commission is also engaged in making a critical compilation, with representative diagrams, of the solubility of hydroxides, hydrous oxides, slightly soluble sulfates, metal sulfides, and silver halides.

The Commission on Electrochemical Data, headed by Dr. *Roger G. Bates* (U. S. National Bureau of Standards, Washington D. C., U. S. A.) is compiling selected electrochemical data of analytical importance, specifically of oxidation-reduction potentials at various ionic strengths in several electrolytes; to date, data for 52 of the elements is complete and work on the remainder will begin in the fall. A systematic collection of selected values of polarographic properties is being compiled; a standard data form has been adopted for the uniform presentation of data (half-wave potential, diffusion current), experimental conditions (solvent, p_H, maximum suppressor, type of microelectrode), reference and explanatory remarks. A critical evaluation has been completed of the accuracy and limitations of the several methods by which dissociation constants have been obtained. Since the solvent medium plays a fundamental part in acid-base dissociation, the constants are being arranged according to solvent; some 80 original articles have been reviewed and constants for 50 compounds collected.

The Commission on Optical Data, headed by Prof. *G. Duyckaerts* (University of Liège, Belgium) is engaged in the preparation of a critical compilation of numerical data on absorption spectra and extinction coefficients of complexes used in analytical chemistry; some two hundred compounds have been covered to date. The Commission will also assist in the coordination of information on molecular spectroscopy (infrared) of analytical interest.

The Commission on Terminology and Expression of Analytical Results, under the guidance of Prof. *Robert J. Forbes* (Bataafsche Petroleum Mij, The Hague, The Netherlands), has brought to completion a draft on Format of an Analytical Method; the Commission is cooperating with ISO/TC 47 in this project to develop a uniform recommendation on the writing of commercial test methods for national and international use. Similar cooperation is being maintained with ISO/TC 12 on the subject of uniform symbols and units.

The Commission on Microchemical Techniques under the guidance of Prof. Dr. *Michael K. Zacherl* (Tierärztliche Hochschule, Vienna, Austria) has completed a survey of microchemical techniques and in some 25 different

countries to ascertain profitable subjects for standardization. Work is now starting on listing of preferred notations (units) of measurement with special reference to microtechniques.

In a joint meeting of the Analytical and of the Physical-Chemical Sections, overlapping of functions and cooperation between Commissions was discussed. Plans were laid for the basis of cooperation between the Commission on Electrochemical Data in the Analytical Section will cooperate with the Commission on Electrochemistry of the Physical-Chemical Section. A new Commission on Molecular Spectroscopy in the Section of Physical Chemistry is contemplated, but the Commission on Optical Data will remain charged with the collection and coordination of information of analytical value.

At present, there are 54 members in the Analytical Section of the Union, including the Section Committee and its Commissions, representing 17 adhering countries; Austria, Belgium, Czechoslovakia, Denmark, England, Finland, France, India, Italy, The Netherlands, Northern Ireland, Spain, Sweden, Switzerland, the United States of America, and Western Germany.

The Society for Analytical Chemistry.

London Discussion Meeting of the Microchemistry Group.

The second London Discussion Meeting of the Microchemistry Group of the Society for Analytical Chemistry was held on Wednesday, 29th June, 1955, at 6.30 p. m., in "The Feathers", Tudor Street, London E. C. 4. The Chair was taken by the Chairman of the Group, Dr. *G. F. Hodsman*.

The subject for discussion was:

The Micro-determination of Molecular Weight.

and some apparatus was shown.

Ordinary Meeting of the Midlands Section.

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry, was held at 7 p. m. on Tuesday, September 13th, 1955, at the University, Edgbaston, Birmingham, 15. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *J. R. Leech*, J. P., and the following papers were presented and discussed:

"*The Use of the Mass Spectrometer in Analysis*", by Dr. *J. C. Robb* (Birmingham University).

There was a very brief account of the working of a Mass Spectrometer followed by a consideration of a number of typical applications to the solution of analytical problems. The major use, namely that involving the analysis of gaseous samples, was discussed in detail and a number of more recent developments was considered. These included the direct determination of the elementary constitution of organic molecules, the analysis of solids and the composition of high molecular weight waxes and oils.

"*Microwave Spectroscopy*", by Dr. *J. Sheridan* (Birmingham University).

The electronic techniques which make microwave spectroscopy entirely different from optical spectroscopy was outlined and was shown to have advantages, for analytical purposes, in the form of extreme resolution and

accurate frequency characterisation. The scope and limitations of the method as a tool to supplement existing techniques for chemical and isotopic analysis was discussed.

Ordinary Meeting of the Scottish Section.

An Ordinary Meeting of the Scottish Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7.15 p. m. on Friday, September 30th, 1955, at The Royal Technical College, Glasgow. The Chair was taken by *F. J. Elliott*, M. Sc., Ph. D., F. R. I. C. The subject of the meeting was "The Determination of Traces of Lead". After an introductory talk by *N. L. Allport*, F. R. I. C., the following papers were presented and discussed:

"*Lead in Biological Materials*", by *S. L. Tompsett*, B. Sc., Ph. D., D. Sc., F. R. I. C. (Northern General Hospital, Edinburgh).

The clinical applications were described first under the headings: (a) the level of blood lead as an aid in the diagnosis and treatment of lead poisoning in the human; (b) the excretion of lead; and (c) the distribution of lead in the tissues of the "normal" subject and in cases of lead poisoning.

The determination of lead in urine, faeces, blood, soft tissues and bone were then dealt with under the headings: (a) destruction of organic matter; (b) separation of lead with ether as a diethyldithiocarbamate complex; and (c) colorimetric determination with dithizone by the reversion technique.

"*The Determination of Lead by Square-wave Polarography*", by *D. J. Ferrett*, M. A., D. Phil. (A. E. R. E. Harwell, Berks.).

A brief survey of the principles of square-wave polarography illustrates how, with this technique, reducible metal ions, e. g., lead, may be determined at concentrations down to $2 \cdot 10^{-7}$ M (0.05 μg of lead per ml). The differential nature of the technique eliminates much of the chemical treatment normally needed before polarographic determinations. These advantages were illustrated in the determination of lead in cocoa (0.7 p. p. m.), in analytical reagents (0.7 p. p. m.), in aluminium, zinc and tinbase alloys (0.003 to 0.1 per cent), and in steels (0.2 per cent).

Ordinary Meeting of the Society.

An Ordinary Meeting of the Society for Analytical Chemistry, was held at 7 p. m. on Wednesday, October 5th, 1955, in the Meeting Room of the Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London W. 1. The President, Dr. *K. A. Williams*, was in the Chair, and the following papers were presented and discussed:

"*The Colorimetric Determination of Phosphorus in Steel and Copper-base Alloys*", by *W. T. Elwell*, F. R. I. C. and *H. N. Wilson*, F. R. I. C. (I. C. I. Ltd., Billingham Division, Physical Chemistry Group, Billingham, Co. Durham).

A colorimetric procedure was recommended for the determination of phosphorus in all classes of steel; the procedure has also been successfully applied to two standard bronze samples.

The new procedure permits a considerable saving in time, particularly in the examination of highly alloyed steels, when the determination can be completed in under $1^1/_2$ hours, compared with about 8 hours required by the existing gravimetric method.

The determination is based on the formation of phosphovanadomolybdic acid, which is soluble in amyl alcohol. The yellow colour, which is proportional to the amount of phosphorus present, does not fade and can be measured in any convenient way.

"*The Determination of Small Amounts of Carbon in Steel by Low-pressure Analysis*", by *R. M. Cook*, A. Met., B. Sc. and *G. E. Speight*, A. Met., B. Sc., F. R. I. C. (Mond Nickel Co. Ltd., Wiggin Street, Birmingham, and Richard Thomas & Baldwin, Bucks.)

A simplified low-pressure method was described for the determination of carbon in steel. The use of a normal combustion furnace in conjunction with the low-pressure analytical apparatus permits samples to be analysed with a precision of ± 0.0001 per cent of carbon up to 0.036 per cent of carbon, the deviation being slightly greater with higher carbon contents.

The method lends itself readily to the analysis of carbon contents on a semi-micro basis when only small weights of sample are available. With medium and high carbon steels, analyses may be carried out on samples weighing as little as 0.05 g with a degree of accuracy at least equal to that given by the normal gravimetric combustion method operated under the best conditions, 2.729-g samples being used.

"*The Determination of Small Amounts of Sulphate by Reduction of Hydrogen Sulphide, and Titration with Mercuric or Cadmium Salts using Dithizone as Indicator*", by *E. E. Archer*, B. Sc. (Distillers Co. Ltd., Great Burgh, Epsom, Surrey.)

Sulphate is reduced to hydrogen sulphide with an acid reduction mixture. The hydrogen sulphide is absorbed in an alkaline solution containing dithizone, and titrated with a solution of mercuric acetate or cadmium sulphate. At the end-point there is a sharp colour change from yellow to red owing to the formation of dithizonates.

Ordinary Meeting of the Midlands Section.

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry, was held at 7 p. m. on Wednesday, October 12th, 1955, at the Mason Lecture Theatre, The University, Edmund Street, Birmingham, 3. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *J. R. Leech*, J. P., and the following paper was presented:

"*The Analysts' Dilemma: Colour or Stability*", by *R. J. P. Williams*, M. A., D. Phil., A. R. I. C. (Merton College, Oxford).

Intense colour as the property of a chemical compound, such as a complex ion, is frequently accompanied by instability of the compound. Inspection of the reasons for instability and of the sources of colour shows that the two properties are often related. The analyst can only use unstable coloured compounds in spot tests. Quantitative reagents demand a stabilisation of colour. The differences between stable and unstable coloured compounds can be explained and the knowledge used to design reagents. Most of the examples discussed were complex ions.

Ordinary Meeting of the Midlands Section.

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7 p. m. on Tuesday, October 25th, 1955, in the Demon-

stration Theatre of the East Midlands Gas Board's Showrooms, Nottingham. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *J. R. Leech*, J. P., and a lecture demonstration was given on:

"*Ring-Oven Technique*", by Dr. *H. Weisz*, winner of the Feigl Price, 1955 (Technical University, Vienna).

The Ring-oven Technique is a simple method for separating ions, or groups of ions, in one single drop. An apparatus called the "Ring-Oven" is designed to wash soluble materials out from a spot on a filter paper and to concentrate them in a sharply bounded circular ring-zone, where they can be detected. Some other pieces of equipment have been developed for this purpose. With the aid of this method an analytical scheme for 14 commoner ions has been worked out: one drop of about 1.5 μl is sufficient for the analysis. The method has also been employed for ring colorimetric analysis.

Buchbesprechungen.

L. J. Bellamy: **Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution.** Autorisierte Übersetzung von *W. Brügel.* Mit 35 Abb., XVI, 300 S. Darmstadt: Dr. D. Steinkopff. 1955. Geb. DM 24,—.

Was für den Emissions-Spektralanalytiker etwa die Wellenlängentabellen von *Harrison* sind, ist innerhalb kurzer Zeit das Buch von *Bellamy* für den IR-Spektroskopiker geworden. *Brügel* führt in seinem Vorwort die Gründe an, die ihn bewogen haben, das Buch zu übersetzen — in erster Linie, eine leichter verständliche Hilfe für den Nichtfachmann zu bieten — und man kann seinen Gründen nur voll zustimmen.

Der Aufbau und Inhalt der englischen Originalauflage bleibt in der deutschen Auflage praktisch unverändert. Fast überflüssig, zu erwähnen, daß sich durch die Übersetzung einige wenige Fehler aus dem Original vermeiden ließen und besonders die Literaturhinweise auf einen nahezu lückenlosen Stand gebracht wurden. Schon allein der letztgenannte Umstand macht die Übersetzung wertvoll. Bedauerlicherweise sind die Hinweise des Übersetzers auf seine eigenen Arbeiten nur kurz gehalten.

Kleine, unwichtige Druckfehler (z. B. Pentaerythrittetranitrat auf S. 231) werden sich in einer weiteren Auflage leicht vermeiden lassen.

Man kann voraussagen, daß *Bellamys* Buch bald fest mit dem Begriff der IR-Spektroskopie verbunden sein wird, und mit deren steigender Anwendung im deutschen Sprachraum wird auch die Übersetzung den ihr gebührenden Platz einnehmen. *J. Derkosch,* Wien.

G. Charlot und *D. Bézier:* **Méthodes électrochimiques d'analyse.** Mit 99 Abb. 96 S. Paris: Masson & Cie. 1954. ffr. 700,—.

Die beiden Autoren behandeln in ihrer Monographie die theoretischen Grundlagen der elektrochemischen Analysenverfahren in kurzer und leichtverständlicher Form. Auf nur 32 Seiten werden die allgemeinen Erscheinungen der Elektrolyse sowie ihre besonderen Anwendungsformen, Elektrolyse bei Trennungen, die innere Elektrolyse und die Elektrographie besprochen. Es folgt sodann eine auf 9 Seiten zusammengedrängte Übersicht der Polarographie. Ein weiteres Kapitel mit 17 Seiten ist den verschiedenen potentiometrischen Verfahren gewidmet, an das sich die Behandlung der Amperometrie anschließt. Es folgen noch ein Abschnitt mit 9 Seiten über die Coulometrie und ein solcher mit 8 Seiten über die Konduktometrie. Die Methode der Hochfrequenzleitfähigkeit ist darin mit nur 12 Zeilen bedacht. Es muß allerdings besonders hervorgehoben werden, daß die neuesten Erkenntnisse der Elektrochemie bezüglich der Polarisationskurven als Grundlage jeglicher Systembetrachtung in den Mittelpunkt dieses Büchleins gestellt wurden. Gerade durch diese Tatsache wird es trotz der Kürze und der oft sehr kurzen

formelmäßigen Behandlung einzelner Kapitel allen Analytikern eine Hilfe sein, die sich mit den theoretischen Grundlagen dieser überaus wichtigen Analysenverfahren auf rasche Art vertraut machen wollen. Durch die jedem Kapitel beigefügte Literaturübersicht der wichtigsten Arbeiten ist darüber hinaus noch jedem Gelegenheit gegeben, tiefer in die Theorie und Praxis der einzelnen Methoden einzudringen. *R. Patzak*-Wien.

G. Kortüm: **Kolorimetrie, Photometrie und Spektrometrie.** Eine Anleitung zur Ausführung von Absorptions-, Emissions-, Fluorescenz-, Streuungs-, Trübungs- und Reflexionsmessungen. 3., neubearb. Aufl. Mit 186 Abb., VIII, 458 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag. 1955. Ganzleinen DM 36.—.

Die 3. Auflage dieses längst in Fachkreisen eingeführten Buches von *Kortüm* beweist durch die annähernde Verdoppelung des Umfanges (von 236 auf 458 Seiten) die außergewöhnliche Steigerung der Bedeutung der darin behandelten Methoden. Bestimmte Beschränkungen ihrer Anwendbarkeit, die früher bestanden, sind vor allem infolge der sprunghaften apparativ-konstruktiven Verbesserungen der Meß- und Verstärkungstechnik unhaltbar geworden.

Schon in den beiden früheren Auflagen gebührte dem Verfasser das Verdienst, systematische Ordnung und Klarheit in ein in vollster Entwicklung befindliches Arbeits- und Forschungsgebiet gebracht zu haben, das dem Nichtspezialisten einigermaßen chaotisch erscheinen konnte. Die vorliegende Neubearbeitung bestärkt noch mehr den Eindruck, daß hier das Werk eines besonderen Fachmannes vorliegt, der auf diesem Gebiet über vieljährige eigene Erfahrung verfügt. Es dürfte in der analytisch-chemischen Literatur, wenn man von den spektrographischen Methoden (hier als „photographische Meßmethoden" abgegrenzt) absieht, gegenwärtig kein zweites Werk geben, das in so knapper und eindringlicher Weise dem Leser Überblick und wirkliches Verständnis und damit auch die Möglichkeit zu selbständigen eigenen Untersuchungen vermittelt.

Wie in den vorhergehenden Auflagen, ist auch diesmal die kritische Diskussion der erreichbaren Genauigkeit und der möglichen Meßfehler eine Besonderheit des Buches. Dieser Umstand kann an Bedeutung kaum überschätzt werden angesichts der leider so häufigen irrtümlichen Beurteilung der Genauigkeit solcher Meßtechniken durch viele ihrer Anhänger. Wer wissenschaftlich auf dem Gebiet der Kolorimetrie und Photometrie zu arbeiten beabsichtigt, sollte zuvor gründlich diesen „Kortüm" studieren. Deshalb soll hier auch von einer näheren Inhaltsangabe des Werkes abgesehen werden. Erwähnt sei lediglich, daß ein allgemeiner Abschnitt über Hilfsmittel für optische Untersuchungen (z. B. optische Filter, Küvetten, Strahlungsempfänger, Stabilisatoren) sowie ein weiterer über thermoelektrische Methoden neu eingefügt worden sind.

Die quantitative Mikroanalyse wendet sich heute immer häufiger den Spurenbestimmungen in allen erdenklichen Materialien und damit den Mikrogrammethoden zu. Für den Bereich von einigen Zehntel bis etwa zehn Mikrogramm sind, neben der Polarographie und Coulometrie, die kolorimetrischen und (spektro-) photometrischen Verfahren die Methoden der Wahl und vielfach auch — wegen der allzu reich verfügbaren Auswahl — der Qual. Diese Qual zu vermeiden und zweckmäßig das für die zu bearbeitende Aufgabe geeignetste Verfahren und Gerät einzusetzen, befähigt *Kortüms* Buch seinen Benutzer. *F. Hecht*, Wien.

Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe. Herausgegeben von *L. Zechmeister*. Band 12. Mit 15 Abb., X, 550 S. Wien: Springer-Verlag. 1955. S 479,—, DM 79,80, sfr. 81,70, $ 19,—, £ 6/16/-; Ganzl. S 497,—, DM 82,80, sfr. 85,10, $ 19,80, £ 7/1/6.

Wieder schließen die meisten Abhandlungen des neuen Bandes an frühere Berichte in dieser Sammlung an, manchmal mit erweiterter, gewandelter oder eingeschränkter Fragestellung, welch letztere sich dann als Teilung eines schon zu groß gewordenen Gebietes präsentiert.

Im ersten Beitrag bringt *Haagen-Smit* die Fortschritte auf dem Gebiet der Mono- und Sesquiterpene (einschließlich der Azulene), die in 14 Gruppen unterteilt werden (30 S.). *Jones* und *Halsall* widmen dann über 70 S. den tetracyclischen Triterpenen, hierauf entwickelt *Tschesche* auf über 30 S. neuere Vorstellungen — eigene und solche anderer Autoren — auf dem Gebiete der Biosynthese der Steroide und verwandter Naturstoffe in einem überaus logisch aufgebauten Artikel. Mit der folgenden Arbeit über die biochemischen Verhältnisse der Pilzcarotinoide (von *Haxo*, 25 S.), in der wir auch eine Systematik der Fungi finden, behandelt also fast die Hälfte des Bandes Isoprenderivate im Sinne der klassischen Idee von *Ruzicka*.

Mit der Chemie der Pyrrolizidinalkaloide und ihrer Spaltprodukte (Necine und Necsäuren) beschäftigt sich auf fast 60 S. *Warren*, der auch die stereochemischen Verhältnisse behandelt (hier wird irrtümlich die Seneciosäure als α,β-Dimethylacrylsäure aufgefaßt), dann fassen *Thompson* und *Thompson* das wichtige Gebiet der Papierchromatographie von Peptiden und Proteinen auf etwa 60 S. zusammen. Es folgt eine monographische Bearbeitung der jodhaltigen Aminosäuren und Proteine (von *Roche* und *Michel*, über 45 S.), dann die Chemie und Biochemie der Schlangengifte (von *Slotta*, 50 S.), wobei auch die zoologische Systematik der Schlangen gegeben wird, und schließlich finden wir eine Arbeit von *Beadle* über Genstruktur und Genwirkung (fast 20 S.). Charakteristisch auch für den vorliegenden Band ist die sorgfältige Nachweisung der Literatur, so daß allein die Schriftenverzeichnisse mehr als 80 S., also fast 15% des Werkes, umfassen. Ein wahrhaft internationaler Autorenstab konnte noch wichtige Arbeiten des Jahres 1954 mit berücksichtigen.

Vielfach tritt die Biochemie, besonders die Frage der Bildung der oft recht kompliziert gebauten Naturstoffe und ihre Beziehung untereinander und zu anderen Naturstoffklassen in den Vordergrund. Die Methodik tritt demgegenüber manchmal zurück, aber es ist klar, daß der überwiegende Teil der eindrucksvollen Forschungen, über die berichtet wird, als ein einziges großes Résumé über Fortschritte der Mikrochemie betrachtet werden kann, wenn sich auch die angewandten Methoden von den klassischen hinwegentwickelt haben, deren Fruchtbarkeit beweisend. *F. Kuffner*-Wien.

Mikrochimica Acta 1955.

Sachregister — Subject Index — Table des matières.

Qual. = Qualitative Reaktionen — Qualitative Reactions — Réactions qualitatives.
Grav. = Gravimetrie — Gravimetric Analysis — Analyse gravimétrique.
Vol. = Maßanalyse — Volumetric Analysis — Analyse volumétrique.
Chrom. = Chromatographie — Chromatographic Analysis — Analyse chromatographique.
Kol. = Kolorimetrie, Photometrie, Spektrophotometrie — Colorimetric, Photometric, Spectrophotometric Analysis — Colorimétrie, Photométrie, Spectrophotométrie.
El. = Elektrochemische Methoden — Electrochemical Methods — Méthodes électrochimiques.
Krist. = Kristallographie — Cristallography — Cristallographie.
Spektr. = Spektralanalyse — Spectral Analysis — Analyse spectrale.
App. = Apparatives — Apparatus — Appareilles.
Div. = Diverses — Miscellanous — Divers.

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Abklingphase								662		
Absorption de Tyndall Absorption of Tyndall								490		
Absorption spectroscopy Absorptionsspektroskopie								714		
Acetamid(e) — Acétamide								555		
Acétate de méthyle								25		
Acetic acid								555		
Acetylen-Sauerstoffflamme								421		
Acide acétique								555		
o-, m-, p-Acide aminophénylarsonique	954									
Acide benzoïque	921									
Acide chromotropique	105									
	110									
	806									
Acide fluorhydrique	1008								1008	
Acide formique								555		

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Acides naphtolmonosulfoniques	112									
Acides naphtylaminesulfoniques	112									
o-, m-, p-Acides nitrophenylarsoniques	119									
Acides organotrithiocarboxyliques								589		
Acide rhodizonique	921									
N-Äthylacetamid								555		
Äthylalkohol			29						29	
Ag	979									
Al			37							
			812							
Alcaloides de l'ergot de seigle	1016									
Alcohols	996		29						29	
Alcool méthylique			29						29	
Alcool salicylique	996									
Alcools	996		29						29	
Alcoylimide									1	
									845	
Alkaloide — Alkaloids Alkaloïdes	806									
Alkohole	996		29						29	
Alkoxy			786						786	
Alkylimid — Alkyl imide									1	
									845	
Alternating current arc								236		
Amalgame(s) — Amalgams			911							
Ameisensäure				1037				555	1037	
o-, m-, p-Aminophenylarsinsäure — o-, m-, p-Aminophenylarsonic acid	954									
o-, m-, p-Aminophenyldithiocarbaminat — o-, m-, p-Aminophenyldithiocarbamate	864									
Amino-acides — Amino acids — Aminosäuren				1037					1037	
Analyse quantométrique								596	596	
								610		
								657		
Analyse des silicates								226		
								236		
Analyse spectrale de solutions								251	251	
Ar								358		
Arc alternative à deux electrodes								236		

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Arc au carbone								245		
								376		
Arc électrique à courant continu								226		
Arc phase								662		
Atomgewicht, mittleres Atomic weight, mean			55							
Atomizer								329	329	
Au	170									
Ausstellungsbericht										734
B								390		
Ba	921									
Barbituriques Barbiturate(s)	1061			1061						
Be					11					
Benzoic acid	921									
Benzidin(e)				1026						
Benzoesäure	921									
Benzoin(e)	992									
Berylliumbronzen — Beryllium bronzes								265		
Beugungsgitter								525		
Bleu brillant Solochrom B					11					
Bogenphase								662		
Book reviews										212
										754
										1100
Br			88		1086	934				
			123							
Bronzes au glucinium								265		
Buchbesprechungen										212
										754
										1100
C	1088		176					646	176	
Ca	921							314		
Calcite								446		
Capillary photometer									336	
									879	
Carbon arc								245		
								376		
Carbonat(e)	1088									
Cathode layer method								245		
CH—, aromatisch aromatic aromatique								471		
CH—, hyperaromatisch hyperaromatic hyperaromatique								471		
CH —, olefinisch — olefinic oléfinique								471		

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
CH—, paraffinisch paraffinic paraffinique								471		
Chloral	996									
Chlorthymol -- Chlorothymol							761			
Chromation - Chromate ion	864									
Chromotropic acid Chromotropsäure	105 110 806									
Cinétique de réactions								155	155	
Cl			88 123		1086	934				
Co			61	61	61					
CO			5							
Communications										203 744 912 1092
CONH								555		
Consistant greases								517		
Continous arc								226		
Couché cathodique								245		
Coumarin(e)							761			
Cu(II)	821		927	61				390		
Cumarin							761			
Cyanid(e) — Cyanure	992									
Decay phase								662		
Décharges dans un gaz								376		
Décomposition à l'aide de Mg Decomposition with Mg	1088		44						44	
Degré de substitution Degree of substitution								589		
Density scale								390		
Derivés de l'acide lumilysergique	1016									
N,N-Diäthylacetamid								555		
2,6-Dibromchinon-4-chlorimid — 2,6-Dibromoquinone-4-chlorimide					882					
Dicyan — Dicyanogen Dicyanogène	969									
N,N-Diethyl acetamide N,N-Diéthyl acétamide								555		
Difference-Y								286		
Diffraction grating								525		
Dimethylamin(e)hydrochlorid(e)	921									

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
p-Dimethyl-aminobenzaldehyd(e) — p-Diméthyl-aminobenzaldéhyde	112									
	1026									
Dimethylglyoxim(e)	979									
3.3′-Dimethylnaphthidin(e)			55							
o-Dinitrobenzene o-Dinitrobenzène o-Dinitrobenzol	101									
	105									
	992									
o-Dipenolmethylenäther	806									
Diphenylcarbazon(e) Diphénylcarbazone			88							
Dipole moment Dipolmoment								505		
2,2′-Dipyridyl			812							
Discharge gases								376		
Dissociation — Dissoziation								481		
Dithiocarbamate(s)	187	1057								
	864									
	1057									
Dithiocarbaminate d'o-, m-, et p-aminophényle	864									
Dithizon(e)	987				1086					
„E 605“								495		
Échelle de densité								390		
Échelle s. p. d.								257		
„EDTA“			37							
			55							
			812							
			911							
			921							
			927							
Education										765
										773
										781
Effet Raman								630		
Effet de résonance Raman								630		
Effet de Schwarzschild								278		
Emissionsquantometer Emission quantometer								596		
Eléments non métalliques								358		
								429		
Entladungsgase								376		
Ergots alkaloids	1016									
Eriochrome black T Eriochromschwarz T			55							
Erreur-Y								286		
Erruptivgesteine								245		

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Erze								245		
Erziehung										765
										773
										781
Essigsäure								555		
Ester de l'acide thiophosphorique — Ester der Thiophosphorsäure										
Ester of Thiophosphoric acid								495		
Éthers méthylèniques d'o-diphénols	806									
Étincelle à basse tension								358	358	
Étincelle à haut tension								245		
								376		
N-ethyl acetamide										
N-éthyl acétamide								555		
Fe(II)	170									
Fe(III)	799		812							
Fette, konsistente								517		
Filtration									859	
Filtrierpapier — Filter paper	821									
Flamme oxy-acétylènique								421		
Fluorwasserstoffsäure	1008								1008	
Formaldehyd(e) — Formaldéhyde	110									
Formic acid								555		
Ga					1076					
Gammazahl								589		
Ge	139			139	118					118
				903	903					
Germanium-tetrabromid(e)										118
Gleichstrombogen								226		
γ-Globulin(e)								490		
Glucose — Glukose			983							
Graisses consistantes								517		
Guanidin(e)	969									
H								358	944	
Halogene(s) — Halogènes	134		123		1086	934		358	134	
Harvey k-values										
Harvey k-Werte								305		
Hexamethylentetramin(e)										
Héxaméthylène tétramine	112									
Hg(I)	987									
Hg(II)	987				803					
High tension spark								245		
								376		
H_2O										917
Hochspannungsfunke								245		
								376		

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Hochvakuum-Mikroexsikkator									962	
Hydrazobenzene — Hydrazobenzène — Hydrazobenzol				1026						
Hydrocarbon flame								421		
Hydrogen bond								481		
								505		
								555		
Hydrogen bonding								467		
								555		
Hydrogen fluoride	1008								1008	
Hydrogen tube								547		
Hydrosulfite de sodium	105									
Hydroxy-8-quinoléine	969				824					
Igneous rocks								245		
Ignition phase								662		
Index „Varal“								471		
In memoriam										1090
Inosit — Inositol	1004									
Insecticides — Insektizide								495		
Internationales Kolloquium, Gmunden 1954								217		
Ions uranyles	799				896					
IR-Spectroscopy IR-Spektroskopie								728		
J			123		1086	934				
^{131}J										130
J_2O_5			5							
Kalkspat								446		
Kapillarphotometer									336	
									879	
Kathodenglimmschicht-Methode								245		
Kinetics of chemical reactions								155	155	
Kohlebogen								245		
								376		
Kohlenwasserstoffflamme								421		
Leistung des Auges								709		
Liaison hydrogène								467		
								505		
								555		
Livres, revues										212
										754
										1100
Longueur d'onde								534		
								547		
Low tension spark								358	358	
Lösungsspektralanalyse								251	251	

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Lumi-Lysergic acid derivates										
Lumi-Lysergsäurederivate	1016				1016					
Machine à écrire les chiffres								416		
Magnesiumaufschluß	1088		44						44	
„Memory System“								542		
Mercury perchlorate			88							
Metallseifen — Metal soaps								517		
Metalloide — Metalloids										
Métalloides								429		
Méthode de contraste de phase (PKV)								525		
Méthode de profilage										
Method of profilage								646		
Methyl-acetat(e)								25		
Methylalkohol — Methyl alcohol			29						29	
Methylene ethers of o-di-phenols	806									
Methylimid — Méthyl imide					845					
Mg								314		44
Micro apparatus								336		
Microcoulombmètre										
Microcoulometer										
Mikrocoulometer						1031			1031	
Microexsiccateur									962	
Microdispositifs								336		
Micro gas pipettes — Mikrogaspipetten									951	
Mikrogeräte								336		
Microphotometer — Micro-photomètre — Mikro-photometer					416				416	
Micropipettes à gaz									951	
Micro projection — Mikro-projektion									49	
Microrespirometer — Micro-respiromètre — Mikro-respirometer									1069	
Mitteilungen										203
										744
										912
										1092
Minerais								245		
Mn								646		
Moment dipolaire								505		
Morin					896					
Mutterkornalkaloide	1016				1016					
N			44							88
										1011

	Qual. Grav.	Vol. Chrom.	Kol. El.	Krist. Spektr.	App. Div.
Napthol sulfonic acids Naphtholsulfonsäuren ...	112				
Naphthylamine sulfonic acids — Naphthylaminsulfonsäuren	112				
N-α-Naphthyläthylendiamin — N-α-Naphthylethylendiamine — N-α-Naphtyléthylèndiamine ..	1026				
Natriumhyposulfit	105				
Natriumrhodizonat	921				
Neocinchophen Néocinchophène				761	
NH				471	
				505	
				555	
Nichtleiter				345	
Nichtmetalle				358	
				429	
Niederspannungsfunke				358	358
o-, m-, p-Nitrophenylarsinsäuren — o-, m-, p-Nitrophenyl arsonic acids	1019				
Noire eriochrome T		55			
Noir Solochrome W. D. F. A.			1076		
Nombre-γ				589	
Non-conductors Nons conducteurs				345	
Non metals				358	
				429	
γ-Number				589	
Numbering printing device..				416	
O			1048		888
					944
					1069
OH				467	
				471	
Ores				245	
Organo-Trithiocarbonat(e)..				589	
Organo-Xanthate(s)				589	
Oxyacetylene flame				421	
Oxamid(e)	969				
Oxin(e)	969		824		
P				646	
Papiers filtres	821				
Perchlorate de mercure....		88			
Petrey-holder, Petrey-Stativ				251	251
Phase contrast method (PKV).....				525	
Phase d'arc				662	

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Phase de décroissance								662		
Phase d'ignition								662		
Phasenkontrastverfahren (PKV)								525		
o-Phenanthrolin — 1,10-Phenanthroline — 1,10-Phénantroline	799									
Phenol — Phénol					882					
Phenylfluoron(e) Phénylfluorone	139				118					
					139					
					903					
Photomètre capillaire									336	
									879	
Pneumatic atomizer								329	329	
Poid atomique, moyen			55							
Polypeptide(s)								555		
Poudres, non conductrices								446		
Profilierungsmethode								646		
Protein — Protéine								481		
								490		
								555		
Powders, non conducting Pulver, nicht leitende								446		
Pulvérisateur pneumatique								329	329	
Pyridin(e)								512		
Pyrrol(e)								505		
Quantomètre à rayons X								696		
Quantomètre d'émission								596		
Quantometrie — Quantometry								596	596	
								610		
								657		
Quartz — Quarz								446		
Quecksilberperchlorat			88							
Raman effect — Raman Effekt								630		
Raman Resonanzeffekt								630		
Raman spectroscopy Ramanspektroskopie								728		
Rapport d'exposition										734
Rare Earths			55							
Reaktionskinetik								155	155	
Report of exposition										734
Réseau de diffraction								525		
Resonance Raman effect								630		
R_f-values — R_f-Werte				1037						
Rhodizonate de sodium	921									
Rhodizonic acid Rhodizonsäure	921									

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Roches								245		
Rongalit(e)	105									
	110									
Röntgenspektroskopie								671		
								684		
Röntgenstrahlenquantometer								696		
Rotating sectors Rotierende Sektoren								278		
Rouge Solochrome E. R. S.					1076					
S			88		839			358		
			153							
Salicin(e)	996									
Salicylalkohol — Salicylalcohol	996									
Salicylanilid(e)							761			
Savons métalliques								517		
Schwarzschild-Effekt Schwarzschild-effect								278		
Schwärzungskurve								390		
Secteurs tournants								278		
Sedimente — Sediments Sédiments								245		
Seltene Erden			55							
Si								226		
								236		
								646		
Silicagel — Silikagel								467		
Sodium hyposulfite	105									
Sodium rhodizonate	921									
Solochrome black W. E. F. A.					1076					
Solochrombrilliantblau B Solochrome Brilliant blue B					11					
Solochrome red E. R. S. Solochrom-Rot E. R. S.					1076					
Solochrom-Schwarz W. D. F. A.					1076					
Solution spectral analysis								251	251	
S. p. d. scale								257		
Spectroscopie à rayons X								684		
Spectroscopie d'absorption								714		
Spectroscopie infrarouge								728		
Spectroscopie Raman								728		
Sr	921									
Stroboscope — Stroboskop								662		
Substitutionsgrad								589		
Sulfoxylat(e)	996									
Support de Petrey								251	251	

	Qual.	Grav.	Vol.	Chrom.	Kol.	El.	Krist.	Spektr.	App.	Div.
Technique du tube à essais				1037					1037	
Terres rares			55							
Tétrabromure de Germanium										118
„Test-tube"-method										
„Test-tube"-Methodik				1037					1037	
l-Thyrosin								481		
Tube à hydrogène								547		
Tyndall absorption								490		
Uranylion — Uranyl ions	799				896					
UV, far — UV, fernes										
UV, lointain								429		
V				824	824					
Vacuum micro desiccator									962	
Valeurs de Harvey								305		
Valeurs de R_f				1037						
„Varal-Index"								471		
Variaminblau B-Base			812							
			927							
Verfahren, leitprobenfreie								703		
W		851						851		
Wave length								534		
								547		
								684		
Wasserstoff-Bindung								467		
								555		
Wasserstoff-Brücke								481		
								505		
								555		
Wasserstoffentladungsröhre								547		
Wechselstrombogen								236		
Wellenlängenmessung								534		
								547		
X-Ray quantometer								696		
X-Ray spectroscopy								684		
Y-difference — Y-Differenz								286		
Y-error — Y-Fehler								286		
Zahlenschreiber								416		
Zerstäuber, pneumatischer								329	329	
Zn				61						
Zündphase								662		

Herausgeber und Eigentümer: Springer-Verlag in Wien, I., Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien, XIX., Chimanistraße 21.
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien, IX., Lustkandlgasse 52.